Studien über das Anthokyan

(III. Mitteilung)

von

Viktor Grafe.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Universität in Wien, Nr. 18 der zweiten Folge.

(Mit 2 Textfiguren.)

Ausgeführt mit einer Subvention der kaiserlichen Akademie in Wien aus dem Legate Scholz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 16. Juni 1911.)

Die wenigen, dem Studium des Anthokyans von chemischer Seite gewidmeten Untersuchungen[1] haben gezeigt, daß »Anthokyan« sicherlich kein Einzelbegriff ist, sondern eine ganze Reihe von Farbstoffen umfaßt, welche sich, obwohl ihnen allen ein gleichartiges Kerngerüst zugrunde liegt, doch im einzelnen, in der Art und Gruppierung der mit diesem Gerüst verbundenen

---

[1] L. Weigert, Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. Jahresb. d. k. k. önol. u. pomol. Lehranst. in Klosterneuburg 1894/95. — R. Glan, Über den Farbstoff der schwarzen Malve, Inauguraldissertation, Erlangen 1892. — R. Heise, Zur Kenntnis des Heidelbeerfarbstoffes. Arb. d. kais. Gesundheitsamtes. Berlin IX, 878 (1894). Über den Weinfarbstoff. Ebenda V, 618 (1889). — A. B. Griffiths, Die Pigmente des Geraniums und anderer Pflanzen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., *36*, 3959 (1903) und Chemical News, 88, p. 249. — T. Ichimura: On the formation of Anthokyan in the Petaloid Calyx of the red Japanese Hortense. Journ. of the College of Sc. Imp. Univ. Tokyo. Vol. XVIII, Art. III (1903/4). — L. v. Portheim und E. Scholl, Untersuchungen über die Bildung und den Chemismus von Anthokyanen, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. *26a*, 480 (1908). — V. Grafe, Studien über das Anthokyan I. und II. Sitzber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien, 115 (1906) und 118 (1909).

Atomkomplexe sehr wesentlich voneinander unterscheiden könne. Es hat sich ferner bei einigen der einschlägigen Untersuchungen herausgestellt, daß eine bestimmte Gruppe in ihrer Wechselbeziehung mit anderen für den Farbstoffcharakter des Anthokyans maßgebend sei, nämlich die Aldehydgruppe, und daß das Anthokyan durch entsprechende Bindung oder Veränderung dieser Gruppe zu einem farblosen Körper umgewandelt werden kann.[1] Es hat sich schließlich in einigen Fällen gezeigt, daß der Anthokyanfarbstoff durch ein Gemenge zweier roter, genetisch wahrscheinlich zusammenhängender, voneinander verschiedener Farbstoffe repräsentiert werde, von denen der eine ein Glykosid vorstellt, der andere nicht.

Die chemischen Untersuchungen des Anthokyans aus früheren Jahren sind mit amorphem Material durchgeführt worden[2] oder es wurde wenigstens nicht ausdrücklich angegeben, in welcher Weise der Blütenfarbstoff zur Krystallisation gebracht worden ist.[3] So fehlt den früheren chemischen Untersuchungen des Anthokyans das Kriterium der chemischen Reinheit in bezug auf das untersuchte Material, und ich konnte beispielsweise bezüglich des Malvenfarbstoffes[4] nachweisen, daß die Analysenzahlen eines früheren Forschers[5] dem Gemisch der beiden Farbstoffkomponenten entstammen, sich also nicht auf ein chemisch einheitliches Substrat beziehen.

Molisch[6] war der erste, welchem es gelungen ist, durch eine besondere Methode das Anthokyan in schönen Krystallen auf dem Objektträger, zuerst innerhalb, dann aber auch außerhalb der Zelle zu gewinnen. Die Methode ist höchst einfach und wurde von Molisch bei einer ganzen Reihe von Blütenarten mit dem gleichen Erfolge durchgeführt. Damit war zum ersten Male der Weg gegeben, die chemischen Eigenschaften der reinen Substanz zu studieren. Denn wiewohl früher schon

---

[1] Grafe, l. c.

[2] Glan, Heise, l. c.

[3] Griffith, l. c.

[4] Grafe I., l. c.

[5] Glan, l. c.

[6] H. Molisch, Über amorphes und krystallisiertes Anthokyan. Botan. Zeitg. 1905, 145.

gelegentlich Anthokyankrystalle in Blütenblättern beobachtet worden waren,[1] erschien jetzt die Möglichkeit gewiesen, den Farbstoff auch außerhalb der Zelle künstlich zur Krystallisation zu bringen und den chemischen Eigenschaften des Farbstoffindividuums näherzutreten. Tatsächlich konnten diesbezüglich in der Folge einige Ergebnisse erzielt werden,[2] es hat sich aber infolge der chemischen Verschiedenheit der einzelnen Anthokyane als notwendig herausgestellt, zahlreichere Pflanzen als dies bisher geschehen war, in den Bereich der Untersuchung zu ziehen, denn es zeigt sich die Aussicht, auf Grund einer genaueren Kenntnis des chemischen Baues auch der Entstehungsweise und biologischen Bedeutung dieses für die Pflanze sicherlich sehr wichtigen Stoffes näherzukommen.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Hans Molisch unternahm ich es, mich dieser Aufgabe zu unterziehen, deren kostspielige Durchführung mir durch eine Subvention der hohen kaiserlichen Akademie der Wissenschaften erleichtert wurde, wofür ich auch an dieser Stelle meinem ergebensten Danke Ausdruck verleihen möchte.

Die von Molisch angegebene Methode besteht einfach darin, das anthokyanhältige Pflanzenmaterial einer Behandlung mit Eisessig zu unterziehen; es ist aber für die makrochemische Darstellung nicht immer ganz leicht das richtige Ausgangsmaterial zu wählen. Schon Molisch (l. c.) teilt mit, daß es ihm trotz vieler Bemühungen nicht gelungen sei, aus Rotkraut *(Brassica oleracea)* krystallisiertes Anthokyan zu gewinnen, obwohl der Farbstoff im Innern der Zelle sehr schön krystallisiert, und auch ich konnte trotz vielfacher Modifikationen der Darstellungsweise nicht zu einem krystallisierten Produkt gelangen. Das ist um so bedauerlicher, als gerade hier ein in großer Menge erhältliches, wenig kostspieliges und ergiebiges

---

[1] Nägeli, Farbkrystalloide bei den Pflanzen. Sitzber. d. Münchener Akad., 1862. — J. Böhm, Physiologische Untersuchungen über blaue Passiflorablumen. Sitzber. d. kais. Akad. Wien, *23*, 19 (1857). — Pim, Cell sap cristalls. Journ. of bot., *20*, 124 (1884). — Kroemer, Über das angebliche Vorkommen von violetten Chromatophoren. Bot. Centralbl., *84*, 33 (1900). — Ichimura, l. c.

[2] Grafe, l. c.

Ausgangsmaterial vorliegt. Trotzdem, wie gesagt, die Resultate negativ ausfielen, möchte ich kurz mitteilen, auf welche Weise ich zum Ziele zu gelangen suchte:

Die noch zum Kopf zusammenschließenden, fast chlorophyllfreien, stark anthokyanhältigen Blätter wurden in frischem Zustande möglichst zerkleinert und mit Eisessig im Kolben übergossen stehen gelassen. Nach einigen Tagen wurde das tiefrot gefärbte Filtrat des Extraktes zur Krystallisation zu bringen versucht. Da es sich in den Versuchen von Molisch herausgestellt hatte, daß eine äußerst langsame Verdampfung des Lösungsmittels für das Gelingen der Krystallisation sehr wesentlich ist, wurde die Krystallisierschale mit einer Glocke bedeckt. Bei meinen späteren Versuchen mit dem Pelargonienfarbstoff fand ich, daß eine Krystallisation dieses sonst sehr schön krystallisierbaren Stoffes ausbleibt, wenn man den Versuch in halbkugeligen oder kleinen flachen Krystallisierschalen vornimmt, wenn also auf verhältnismäßig engem Raum sich eine stark konzentrierte Farbstofflösung befindet; in solchen Fällen erhält man immer eine amorphe Masse, welche allerdings sofort zum Krystallisieren gebracht werden kann, wenn man eine kleine Menge davon etwa auf einem Objektträger mit Wasser behandelt und dieses unter dem Deckglas verdunsten läßt. Es wurde daher der Eisessigextrakt auf großen flachen Glasplatten langsam zur Trockene gebracht, ohne daß aber Krystalle erzielt worden wären. Noch weniger gelang das durch Beschleunigung der Entfernung des Lösungsmittels auf dem Wasserbade und auch nicht durch dessen Entfernung im luftverdünnten Raum in der Wärme oder bei gewöhnlicher Temperatur. Es zeigte sich bei meinen späteren Versuchen mit dem Pelargonienfarbstoff, daß es sich bei dem aus der Zelle isolierten Anthokyan offenbar um eine sehr labile Substanz handelt, welche durch ganz gelinde Wasserbadwärme, ja schon durch längeres Stehen bei gewöhnlicher Temperatur unter Atmosphärendruck chemische Veränderungen erleidet. Ebensowenig führt eine Extraktion mit Wasser zum Erfolg. Offenbar sind es die verschiedenen Inhaltskörper der Zelle, welche in den Extrakt mit übergehend eine Reindarstellung des Farbstoffes illusorisch machen. Es wurde daher versucht, die

zerkleinerten frischen Blätter vor der Farbstoffgewinnung mit Äther zu extrahieren; der Äther wurde dann durch einen Luftstrom und Aufbreiten des Materials vertrieben, nachdem der ätherische Extrakt abgepreßt worden war. Das so gereinigte Blattmaterial wurde nun mit Eisessig, respektive Wasser oder 96 prozentigem Alkohol stehen gelassen oder in der Wärme ausgezogen, die Extrakte wie oben erwähnt behandelt, aber ohne Erfolg. Der alkoholische Extrakt ist dunkelrot, wenn der Alkohol nicht länger als etwa $^1/_2$ Stunde mit den Blättern in Berührung war, sonst mehr bräunlich. Kraut und Extrakt werden beim Erwärmen dunkler rot, beim Erkalten wird die Färbung schwächer. Heiße schweflige Säure entfärbt die Rotkrautblätter sehr schnell und auch der Extrakt mit Wasser oder Alkohol ist dann nahezu farblos, die rote Färbung der Blätter und des Extraktes kehrt aber beim Erkalten wieder. Es wurde ferner, um die kolloidalen Substanzen zu entfernen, versucht, die Extrakte der frischen oder der mit Äther gereinigten Blätter durch Dialyse mittels Pergamentpapiers und tierischer Blase zu reinigen. Nach etwa vier Tagen ist das Dialysat stark rot gefärbt, ohne aber nach Abtreiben des Lösungsmittels zu krystallisieren.

Von der Vermutung ausgehend, daß in Wasser lösliche Eiweißstoffe, wie sie ja gerade im Rotkraut in großer Menge auftreten, die Veranlassung der Mißerfolge seien, suchte ich die Blätter vor der Extraktion in wasserfreien Zustand zu bringen. Nun ist aber das Anthokyan gerade gegen Erwärmen sehr empfindlich: selbst wenn die Blätter bei gewöhnlicher Temperatur oder aufgebreitet an der Sonne liegend, zur Trockene gebracht wurden, zeigten sie bald die braune Mißfarbe, wie sie beim Absterben der Blätter durch die »Atmungspigmente« hervorgerufen wird und es konnte kein roter Auszug mehr gewonnen werden. Auch beim Versuch, die Blätter mittels Chloroform- oder Ätherdämpfe zu töten, bilden sich die erwähnten braunen Farbstoffe, so daß kein Anthokyanauszug gewonnen werden kann. Ferner wurde versucht, die fein zerriebenen frischen Blätter mit Gips gut vermischt im Exsikkator stehen zu lassen, um das enthaltene Wasser an den gebrannten Gips zu binden, worauf versucht wurde mit absolutem Alkohol,

respektive frisch destilliertem Eisessig einen Anthokyanextrakt zu gewinnen. Wenn bei diesem Versuch für möglichsten Luftabschluß Sorge getragen wurde, gelang es in der Tat, die braune Verfärbung hintanzuhalten, aber es zeigte sich, daß sorgfältig getrocknete Extraktionsmittel aus dem zerriebenen staubtrockenen Material so gut wie keinen Farbstoff auszogen, teils infolge des Umstandes, daß Wasser bei der Lösung des Anthokyans überhaupt eine große Rolle spielt,[1] teils vielleicht, weil der Farbstoff beim Trocknen in eine unlösliche Modifikation übergeführt worden ist. Schließlich wurde noch versucht, eine chemische Reinigung des Rohauszuges oder des Dialysates durchzuführen. Die konzentrierte wässerige, respektive Eisessiglösung wurde mit einer gesättigten Lösung von Ammonsulfat behandelt, filtriert und das Filtrat nach dem Eindunsten zur Trennung von Ammonsulfat und von Zucker mit 96 prozentigem Alkohol aufgenommen. Die eingetrocknete alkoholische Lösung zeigte weder makroskopisch noch mikroskopisch sichtbare Krystalle. Ferner wurde die ursprüngliche Lösung mit gesättigter Bleiazetatlösung gefällt, der voluminöse grünlichblaue Niederschlag abgesogen, wiederholt mit Wasser, schließlich mit Alkohol gewaschen, in Wasser aufgeschlämmt, gekocht, mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert und heiß durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerlegt; das Filtrat vom Schwefelblei zur Trockene abgedampft, mit Alkohol aufgenommen und im Vakuum längere Zeit stehen gelassen. Die Rückstände hatten stets amorphen Charakter.

Es wurde ferner versucht, um eine Trennung von den Verunreinigungen zu bewirken — auch die weitgehend chemisch gereinigten Filtrate zeigten noch immer den penetranten »Krautgeruch«, von kleinen Mengen Methyl-Merkaptan aus der Zersetzung von Eiweißstoffen herrührend, ein Beweis, daß diese letzten verunreinigenden Spuren hartnäckig anhaften[2] — das Gemenge über einen nach Tswett[3] mit getrocknetem $CaCO_3$

---

[1] Grafe II., l. c.

[2] Nencki, Archiv f. exper. Pathol. und Pharmacie, XXVIII, p. 206; Rubner, Archiv f. Hygienie, XIX, p. 136.

[3] M. Tswett, Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., *24*, 384 (1906).

gefüllten Adsorbator zu filtrieren; es verblieben wohl gewisse Anteile im Adsorbator, ohne daß aber der durchgegangene Extrakt hätte zur Krystallisation gebracht werden können. Da es sich gezeigt hatte, daß der Blütenfarbstoff in den genauer untersuchten Fällen aus einem Gemisch von zwei Komponenten besteht, von denen die eine zum Krystallisieren veranlaßt werden kann, während die andere amorph bleibt, wurde der Versuch gemacht, da es sich bei der einen Komponente um ein Glykosid handelt, durch Erwärmen mit verdünnter Salzsäure eine Hydrolyse herbeizuführen, um dann vielleicht den zuckerfreien Anteil der Krystallisation zuzuführen, und zwar wurde dieser Versuch bei allen auf die beschriebenen verschiedenen Arten gewonnenen Extrakten angestellt und die filtrierten Auszüge — beim Erwärmen mit Salzsäure ergab sich nach dem Konzentrieren immer ein amorpher Niederschlag — direkt oder nach dem Ausschütteln mit Äther zum Krystallisieren aufgestellt, ohne daß aber, weder bei Atmosphärendruck noch unter der Vakuumglocke der erwünschte Erfolg sich gezeigt hätte. Es sei noch erwähnt, daß allen Extrakten, wenn sie auf dem Wasserbad eingeengt werden sollten, einige Tropfen Essigsäure zugesetzt wurden, nachdem sich gezeigt hatte, daß Eindampfen der neutralen oder vorher mit Sodalösung neutralisierten Extrakte erfolglos ist. Ich habe diese negativen Versuche wiedergegeben, um zu zeigen, daß beim Rotkraut offenbar ein von dem gewöhnlichen ganz abweichender Weg wird eingeschlagen werden müssen, um den Anthokyanfarbstoff aus diesem Material in krystallisierter Form zu gewinnen.

Dagegen ist es mir gelungen, nach der Methode von Molisch aus den Blütenblättern von *Pelargonium zonale* den Farbstoff rein, krystallisiert in hinreichender Menge darzustellen, um ihn der chemischen Analyse zuzuführen.

Der Anthokyanfarbstoff aus der Scharlachpelargonie (Pelargonium zonale).

Zunächst wurde der von Molisch beschriebene Versuch wiederholt und ein Stück eines Blütenblattes unter dem Mikroskop zwei Tage mit Eisessig behandelt; nach dieser Zeit erscheinen in sehr vielen Zellen schöne Krystallrosetten,

prächtig rote Sterne, die aus Nadeln verschiedener Größe zusammengesetzt sind. Auch wenn man Blütenblätter mit Eisessig übergießt und nach mehrtägigem Stehen einen Tropfen des Extraktes auf dem Objektträger eintrocknen läßt, zeigen sich, besonders nach dem Umkrystallisieren aus Wasser dieselben schönen Krystallrosetten. Der Erfolgt bleibt aber aus, wenn man mit Alkohol oder mit Wasser extrahiert und dann Eisessig zusetzt.

Um zu erproben, auf welchem Wege der Farbstoff am zweckmäßigsten aus den Blütenblättern ausgezogen werden könne, wurden folgende Vorversuche ausgeführt: 1. Die abgezupften, von Kelch und Staubgefäßen befreiten Blütenblätter mit Eisessig übergossen und einige Tage stehen gelassen; der tiefgelbrote Extrakt, welcher durch Absaugen der Blätter gewonnen wurde, in großen flachen Schalen zum Teil direkt zum Krystallisieren aufgestellt, zum Teil auf einer großen flachen Glastafel ausgegossen und mit einer zweiten überdeckt, der eingetrocknete Rückstand mit dem Nickelpistill zusammengekratzt, in möglichst wenig Wasser gelöst und nun in Glasschalen von Glocken bedeckt, zur Krystallisation gestellt. Der Blätterrückstand wurde mit Eisessig im Wasserbad am Rückflußkühler behandelt und der abgesogene Extrakt zur Krystallisation zu bringen versucht. Während im ersteren Fall nach Verdunsten des Lösungsmittels zahllose schöne tiefrote Krystallrosetten[1] entstanden (Fig. 1 und 2), zwischen denen größere farblose blattartige Krystallmassen eingelagert waren, gelang die direkte Krystallisation der in der Hitze gewonnenen Extrakte nicht, sondern erst nach der unten zu beschreibenden Fällung mit Bleiazetat. 2. Wurde mit Wasser in der Kälte und in der Hitze extrahiert; wie bereits erwähnt, gelingt es nicht, solche Extrakte zur Krystallisation zu bringen, es möge erwähnt werden, daß die Blütenblätter nach der Extraktion mit Wasser ganz farblos wurden, durch eine Spur einer Säure oder selbst nur über den offenen Hals einer Salzsäureflasche gehalten, aber wieder ihre intensive rote Farbe erhielten, ohne

---

[1] Für die Anfertigung der Mikrophotogramme bin ich Herrn Assistenten Dr. V. Vouk zu großem Danke verpflichtet.

allerdings unter dem Mikroskop Krystalle zu zeigen. Auch die mit absolutem Alkohol ausgezogenen Blätter zeigen dieselbe

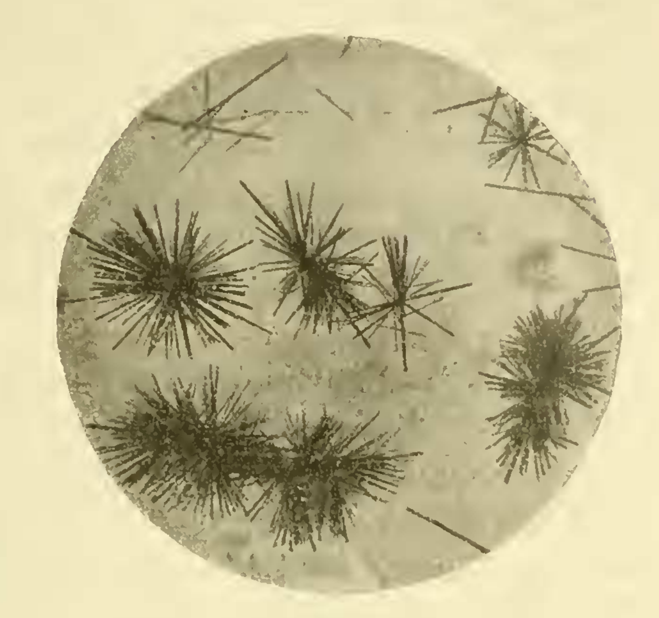


Fig. 1.

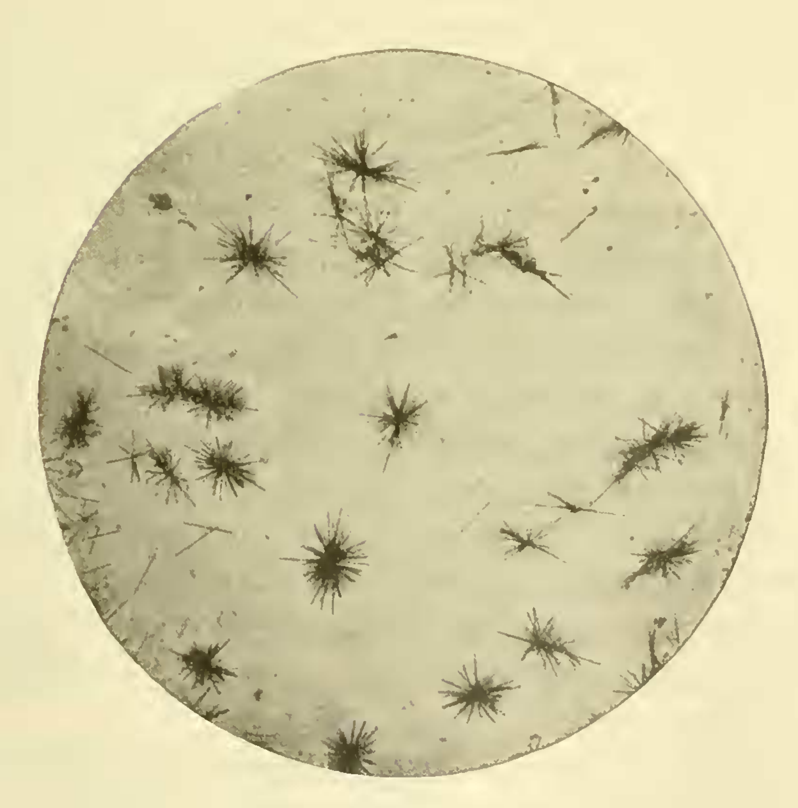


Fig. 2.

Erscheinung. Mit Rücksicht auf die Entdeckung einer äußerst labilen Karbonylgruppe im Molekül des Pelargonien-Antho-

kyans, das für die Farbe verantwortlich zu machen ist, welche verschwindet, wenn die Karbonylgruppe verändert wird, liegt es nahe bei der Entfärbung der Blätter durch Wasser und Alkohol an eine Hydratation, respektive Verbindung mit Alkohol zu denken, welche lockere Verbindung im Einvernehmen mit der Wiederherstellung der Farbe durch das Hinzutreten von Säure wieder gelöst wird. Man könnte allerdings auch an einen Fall von Gleichgewichtsisomerie denken, eine Frage, zu deren Entscheidung weitere Untersuchungen notwendig wären.

Die nach der Extraktion mit Alkohol und Verdunsten desselben zurückbleibenden Blätter sind staubtrocken, gelblichweiß und färben sich allmählich an der Luft intensiv rotviolett. Um zu entscheiden, ob der Luftsauerstoff oder die Kohlensäure der Luft an dieser Färbung schuldtrage, wurden die Blätter im Exsikkator über Ätzkali aufgestellt und ein von Kohlensäure befreiter Luftstrom darübergeleitet. Die Blätter blieben auch nach sechs Tagen farblos, während sie an gewöhnlicher Luft schon nach wenigen Stunden die erwähnte Verfärbung aufweisen. 3. Wurden die Blätter längere Zeit mit Äther geschüttelt und dann mit Wasser, respektive Eisessig extrahiert. Der Äther wurde vorher sorgfältig durch Schütteln mit verdünnter $NaOH$ von Säure und Alkohol gereinigt und dann durch Stehen über getrocknetem CaO und nachfolgendes Destillieren von Wasser befreit. So gereinigte Blätter geben einen Eisessigextrakt, der von den oben erwähnten blattähnlichen Krystallmassen frei ist; diese bestehen wahrscheinlich aus *n*-Nonansäure (Pelargonsäure), respektive aus einer Verbindung derselben. Noch zweckmäßiger ist es, den kalt gewonnenen Eisessigextrakt mit wasserfreiem Äther auszuschütteln, wobei allerdings infolge der zur Scheidung notwendigen Hinzufügung größerer Mengen Wassers die Dauer der Krystallisation in die Länge gezogen wird.

Wenn man vorher getrocknete Blütenblätter mit Eisessig oder Alkohol extrahiert, erhält man einen syrupösen Extrakt, der nicht zum Krystallisieren zu bringen ist, auch nicht, nachdem er mit einigen Tropfen Säure am Wasserbad erhitzt wurde; die Flüssigkeit enthält dann viel reduzierenden Zucker.

Wenn man frische Blätter mit Eisessig in der Kälte extrahiert und einen Tropfen des Extraktes am Objektträger verdunstet, sieht man die bekannten roten Krystallsterne des Anthokyans, welche in einer roten Flüssigkeit eingebettet liegen, die wohl auch eintrocknet, aber nicht krystallisiert. Wenn man den Eisessigextrakt in einen Dialysator aus der Blase eines frisch geschlachteten Rindes einfüllt und gegen Wasser mehrere Tage dialysiert, erhält man ein dunkel gelbrot gefärbtes Dialysat, von dem ein Tropfen auf dem Objektträger massenhafte Krystallsterne entstehen läßt, während innerhalb der Dialysiermembran eine dunkelrot gefärbte Flüssigkeit zurückbleibt, auch nachdem die Dialysierflüssigkeit wiederholt gewechselt worden war und sich kaum mehr färbte. Dieser Umstand beweist, daß es sich beim Pelargonien-Anthokyan um ein Gemisch von zwei Farbstoffen handelt, von denen der eine krystallisiert und durch Dialysiermembranen diffundiert, während der andere sich wie ein Kolloid verhält. Diese beiden Komponenten unterscheiden sich zunächst durch die Farbe. Ich möchte gleich darauf hinweisen, daß der krystallisierte Anteil sehr labil ist und namentlich beim Erwärmen in die kolloidale Modifikation überzugehen scheint, wenn nicht, wie das beim mikroskopischen Präparat der Fall ist, ein luftdichter Lackring die Einwirkung äußerer Faktoren ausschließt. Je reiner die krystallisierte Modifikation vorliegt, desto weniger haltbar scheint sie zu sein und beim Abdampfen des Lösungsmittels am Wasserbad, selbst unter vermindertem Druck, ja sogar beim Stehen an der Luft durch längere Zeit, findet eine weitere Veränderung des krystallisierten Farbstoffanteiles statt, die sich, beispielsweise nach dem Abdampfen am Wasserbad darin zeigt, daß die schönen Krystallrosetten einer Unmenge rhombischer und würfelförmiger farbloser Krystalle Platz gemacht haben, die in einem dunkelroten Syrup schweben. Übrigens ist dieser krystallisierte Farbstoffanteil auch sehr hygroskopisch, zerfließt nach kurzer Zeit an der Luft und konnte nur im Vakuumexsikkator bei 10 *mm* Druck und über Phosphorsäureanhydrid solange aufbewahrt werden als es zu seiner chemischen Charakterisierung notwendig war.

Der Vorgang zur Bewältigung größerer Mengen von Blütenblättern war folgender:

Die frisch geernteten Pelargoniumblüten wurden zerzupft, die Blütenblätter von Kelch und Staubgefäßen durch sorgfältiges Aussuchen getrennt und jene sofort, in weiße Preßtücher eingeschlagen, dem langsam wirkenden Druck einer starken Schraubenpresse unterworfen, wobei der tiefdunkelrote Zellsaft in Glaskolben aufgefangen wurde. Der trockene Preßrückstand wurde, mit Eisessig übergossen, mehrere Tage stehen gelassen und der Extrakt abgesogen. Beide Lösungen wurden nun mit Äther geschüttelt, die gelbliche ätherische Schichte von der wässerigen getrennt und beide für sich, nachdem die Anthokyanlösung der ersten Pressung mit Eisessig versetzt war, durch ein Tonfilter durchgesogen, um etwaige schleimige Anteile und Eiweißkörper zurückzuhalten. Das klare Filtrat wurde nun der Dialyse durch Schleicher-Schüll'sche Pergamentschläuche unterworfen und dadurch eine Scheidung der beiden oben erwähnten Komponenten bewirkt. Aber auch noch in anderer Weise ließ sich diese Trennung ausführen. Gießt man nämlich den durch Ton filtrierten Eisessigauszug in viel Äther ein, so fällt eine braune flockige Masse aus, die an den Gefäßwänden fest haftet. Das Filtrat dieser Substanz ist gelbrot und liefert die bekannten Anthokyanrosetten, die braunen Flocken, mit Äther nachgewaschen, lösen sich in kaltem 96 prozentigem Alkohol nicht mehr auf, wie das beim »Gesamtanthokyan« und beim krystallisierenden Anteil der Fall ist, wohl aber leicht in Wasser das mit einigen Tropfen Alkohols versetzt ist, zu einer braunvioletten Flüssigkeit, die aber keine Krystalle bildet. Wenn man die durch die Pukhalls gezogene Eisessiglösung dialysiert und im Dialysat den Eisessig unter vermindertem Druck abtreibt, beobachtet man nach dem Erkalten das Auftreten von weißem Krystallsand, während die Farbe der Flüssigkeit lichter geworden ist. Ein Tropfen der aufgeschüttelten Lösung zeigt unter dem Mikroskop zahlreiche der vorerwähnten farblosen Krystalltafeln neben einzelnen Anthokyanrosetten, während vor dem Kochen diese Krystalle nicht zu sehen gewesen waren. Ich glaube daraus schließen zu dürfen, daß es sich in den farblosen Krystallen um ein

Spaltungsprodukt der krystallisierenden Anthokyankomponente handelt. Auf ihre chemische Charakterisierung komme ich weiter unten zurück.

Wenn man die gewonnenen Extrakte mit Bleiacetat versetzt, fällt ein dunkelvioletter dicker Niederschlag aus, dessen Filtrat dunkelrot ist, sich aber durch Bleiacetat nicht mehr ausfällen läßt, in Äther gegossen, keine braunen Flocken mehr ergibt. Die Lösung läßt sich nicht zur Krystallisation bringen, sondern zeigt, eingedunstet, die bekannte schwarzrote amorphe Masse. Die mit Wasser gewaschene und getrocknete Bleifällung des anderen Anteiles wurde in absolutem Alkohol suspendiert und durch Eintropfen von Schwefelsäure zerlegt, vom Bleisulfat abfiltriert und zur Krystallisation aufgestellt. Es zeigten sich die charakteristischen Krystallrosetten; durch Zugießen von Äther, wie mir das seinerzeit beim Anthokyan von *Althaea rosea* gelungen war, ließ sich hier keine Krystallisation bewirken. Derselbe Erfolg wie durch Schwefelsäure ließ sich auch durch Suspension des Bleiniederschlages in Wasser, Einleiten von Schwefelwasserstoff und Abfiltrieren der roten Flüssigkeit vom Schwefelblei erzielen. Wenn der Eisessigextrakt durch Eindampfen zur Trockene gebracht, mit Wasser aufgenommen wurde, so hinterblieb, wie erwähnt, ein amorpher Rückstand und das Filtrat ergab in Äther gegossen keine Flocken mehr, es war also aus dem krystallisierten Anteile der amorphe entstanden. Da, wie erwähnt, die krystallisierte Anthokyankomponente sehr empfindlich ist und sich auch bei längerem Stehen an der Luft zersetzt, mußte das Verjagen des Eisessigs mit tunlichster Beschleunigung, nämlich unter fortwährendem Absaugen an der Pumpe im Vakuumexsikkator über Ätzkali geschehen. Da es sich zeigte, daß die Bleiverbindung etwas haltbarer ist, wurde in der Folge stets der Umweg über die Bleifällung gewählt, obwohl dadurch der ohnehin schwierige und kostspielige Weg der Darstellung noch etwas komplizierter wurde. Es gelang mir schließlich im Verlaufe von $1^1/_2$ Jahren aus zirka 28 *kg* Blütenblätter von *Pelargonium zonale* auf diese Weise etwa 10 *g* des krystallisierten und 15 *g* des amorphen Anthokyananteiles darzustellen.

Untersuchung des krystallisierenden Anteiles.

Dieser Anteil des Anthokyangemisches löst sich schwer in absolutem Alkohol und leicht in Aceton auf, beim langsamen Verdunsten des mit Eisessig versetzten Lösungsmittels erscheint er in prachtvollen größeren und kleineren, mikroskopisch wahrnehmbaren Krystallrosetten, welche aus feineren und breiteren, im einzelnen mehr orangerot aussehenden Nadeln bestehen, während das ganze Krystallaggregat durch die Häufung der Nadeln tiefrot erscheint. Die Masse ist, wie erwähnt, sehr hygroskopisch und zerfließt, einige Tage an der Luft belassen, zu einem Syrup, muß daher im trockenen Raum aufbewahrt werden. Wenn man ein aus gereinigten Krystallaggregaten bestehendes mikroskopisches Präparat sich selbst überläßt, schneller beim Erwärmen am Wasserbad, sieht man die vorerwähnten farblosen Krystalle darin auftreten, ebenso wenn man aus einer an der Luft belassenen oder erwärmten Quantität des reinen Farbstoffes ein mikroskopisches Präparat herstellt.

Die Schmelzpunktsbestimmung ergab eine plötzliche Bräunung, offenbar infolge Zersetzung bei 270°, während das Präparat gleichzeitig schmolz; bei der genannten Temperatur trat also gleichzeitig Bräunung und Verflüssigung des Präparates ein, das bei der Abkühlung zu einer braunen, nicht mehr krystallisierenden Masse erstarrte.

Durch Mineralsäuren oder Essigsäure wird die Substanz tiefrot gefärbt; auch wenn in neutraler Lösung, etwa infolge großer Verdünnung die Färbung kaum hervortritt, wird mit einer Spur Säure die scharlachrote Nuance deutlich. Auch Salpetersäure bewirkt diese Erscheinung, nach einigem Stehen, schneller beim Erwärmen, wird die Färbung lichter, geht in ein dunkles Gelb über und die Farbstofflösung erscheint in bezug auf ihre Reaktion mit Alkalien verändert. Alkalien und Ammoniak erzeugen zuerst eine, am Boden der Eprouvette auftretende grünliche Schichte und die Flüssigkeit erscheint, nachdem sie beim Durchschütteln alkalisch geworden ist, in der Aufsicht grünlichrot, besonders beim Schütteln an der Eprouvettenwand, während sie im durchfallenden Licht noch immer dunkelrot aussieht. Die Färbung mit Ammoniak ist

übrigens graublau, mit Alkalilaugen schmutziggrün. Ein ähnliches Verhalten, wenn auch bei weitem nicht so auffallend, zeigt auch der Malvenfarbstoff; auch hier ist die rote Farbe noch lange sichtbar, nachdem eine gegen Lackmus ausgesprochene alkalische Reaktion eingetreten ist, weshalb, wie ich schon in meiner ersten Abhandlung bemerkte, der Malvenfarbstoff als Indikator nicht brauchbar wäre. Erst in großer Verdünnung tritt beim alkalisch gewordenen Pelargonien-Anthokyan die schmutziggrüne Färbung auch im durchfallenden Lichte auf.

Die alkoholische Lösung des Farbstoffes liefert mit Eisenchlorid eine tintenähnliche blauviolette Färbung wie bei den »eisenbläuenden« Gerbstoffen; durch Salzsäurezusatz wird diese Farbe in hellgelb verwandelt und bei nachfolgender Ausfällung des Eisenhydroxyds durch Sodalösung verschwindet die Farbe der überstehenden Flüssigkeit gänzlich. Wenn man die mit Salpetersäure dunkelrot gewordene ursprüngliche Lösung mit Soda neutralisiert, so wird die Farbe nicht, wie das bei vorhergegangenem Ansäuern mit anderen Mineralsäuren der Fall ist, schmutziggrün, sondern gelb und nachfolgender Zusatz von Salzsäure vermag die ursprüngliche rote Färbung nicht wiederherzustellen, der Farbstoff ist also offenbar verändert worden. Längeres Stehen, sehr schnell Kochen mit einigen Tropfen käuflichen Wasserstoffsuperoxyds verändert unter Gasentwicklung die rote Farbe in gelb, darauffolgender Zusatz von Alkali erzeugt fast völlige Farblosigkeit; auch hier zeigt sich der Farbstoff, offenbar wie dort durch Oxydation verändert. Kaliumbichromat erzeugt in der ursprünglichen Lösung einen schokoladebraunen Niederschlag, auf Zusatz von Schwefelsäure wird dieser grün, verschwindet dann und es bleibt eine grünlichrote, an die Alkalireaktion erinnernde Farbe zurück, die durch Zusatz von Natronlauge hellgrün wird. Die blauviolette Färbung mit Eisenchlorid wird beim Kochen gelbbraun. Quecksilbernitrat erzeugt einen braunvioletten Niederschlag, Antipyrin und Koffein, die bekannten Gerbstoffreagenzien verändern nicht. Bei der Analyse des feingepulverten lufttrockenen Produktes zeigte es sich, daß hier andere Zahlen resultierten, als nach mehrtägigem Trocknen

und gelindem Erwärmen in der Vakuumglocke über Ätzkali.

Die Elementaranalyse der lufttrockenen Substanz, welche sich bei der qualitativen Prüfung als stickstofffrei erwiesen hatte, ergab folgende Zahlen:

I. 0·1712 *g* Substanz gaben 0·2909 *g* Kohlensäure und 0·0905 *g* Wasser.
II. 0·2354 *g* Substanz gaben 0·3995 *g* Kohlensäure und 0·1258 *g* Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_{18}H_{26}O_{13}+2\,CH_3COOH$
	I	II	
C	46·34	46·29	46·31
H	5·87	5·93	5·96
O	47·79	47·78	47·73

Es wurden fünf Analysen durchgeführt und aus den am besten aufeinander stimmenden das Mittel gezogen.

Nachdem die Substanz im Vakuum über Ätzkali getrocknet worden war, wurde sie neuerdings der Elementaranalyse unterworfen. Es resultierten folgende Zahlen:

I. 0·223 *g* Substanz gaben 0·3982 *g* Kohlensäure und 0·1025 *g* Wasser.
II. 0·1832 *g* Substanz gaben 0·3280 *g* Kohlensäure und 0·0872 *g* Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_{18}H_{26}O_{13}$
	I	II	
C	48·69	48·82	48·00
H	5·10	5·29	5·78
O	46·21	45·89	46·22

Die Analysendaten zeigen also, und die nachfolgende Molekulargewichtsbestimmung bestätigte es, daß bei der Behandlung mit Eisessig zwei Moleküle Krystalleisessig in das krystallisierte Anthokyan mit übergehen, welche wahrscheinlich auch eine wesentliche Bedingung für die Krystallisation, respektive die Entwicklung schöner Krystallformen beim Anthokyan bilden. Das dürfte auch die Ursache sein, weshalb die Methode von Molisch so prächtige Anthokyankrystalle auf so einfachem Wege entstehen läßt.

Die Bestimmung des Molekulargewichtes geschah mit dem Depressimeter von Eykman mit Phenol und Eisessig als Lösungsmitteln; die beiden Bestimmungsreihen lieferten befriedigend aufeinanderstimmende Ergebnisse. In reinem, krystallisiertem Phenol löst sich übrigens das Anthokyan ebenso schwer wie in absolutem Alkohol etc., sondern eine Lösung erfolgt mit merklicher Geschwindigkeit erst dann, wenn die genannten Lösungsmittel infolge ihrer hygroskopischen Eigenschaften etwas Wasser angezogen haben. Da der Apparat von Eykman der Hygroskopizität der Karbolsäure Rechnung trägt und hier infolge des über Zimmertemperatur gelegenen Schmelzpunktes die Kühlung durch Luft allein bewirkt werden kann, während bei Eisessig mit Kältemischungen gearbeitet werden muß, wurden nur mit Phenol Versuche in genügender Anzahl angestellt, um hier angeführt werden zu können. Die exsikkatortrockene Substanz lieferte nach dem oben erwähnten Erwärmen im Vakuum folgende Werte:

$$\left.\begin{array}{ll}\text{Phenol:} & 8\cdot59\,g \\ \text{Substanz:} & 0\cdot2961\,g\end{array}\right\}\ \text{Konstante für Phenol: 76.}$$

Erniedrigung des Gefrierpunktes als Mittel dreier aufeinanderstimmender Bestimmungen: 0·60° C., entsprechend einem Molekulargewichte von:

	Gefunden	Berechnet für $C_{18}H_{26}O_{13}$
$M = K\,.\,\dfrac{100\,.\,S}{\Delta\,.\,L} =$	437	450

Da die zu lösende Anthokyanmenge sich nicht immer glatt in der gegebenen Menge Phenol auflöste, wurde eine größere Quantität desselben in der Depressimeterbirne mit dem Phenol erwärmt, mit der dunkelroten Flüssigkeit die Bestimmung durchgeführt, das Ungelöste durch Ausschütteln des Phenols mit Äther und Lösen des Farbstoffes in Wasser nach dem Abdampfen des Wassers bestimmt und die Differenz für die Molekulargewichtsbestimmung in Rechnung gestellt.

Der Ausfall der Eisenchloridreaktion zeigt, daß wir es beim Anthokyan mit einem phenolartigen Stoff zu tun haben, jedenfalls mit einem aromatischen Kern, der freie Hydroxyl-

gruppen trägt; es zeigt sich also auch hier wieder die nahe Verwandtschaft mit den Gerbstoffen, deren Bausteine ja auch bei der Kalischmelze aus den Anthokyanfarbstoffen erhalten werden können. Über die Stellung der erwarteten und durch die Analyse tatsächlich nachgewiesenen Hydroxylgruppen läßt sich vorderhand nicht mit Bestimmtheit aussagen, als wahrscheinlich darf aus der dem Oxyhydrochinon oder der Dioxybenzoesäure analogen Farbenreaktion mit Eisenchlorid die Orthostellung angenommen werden, wie ja auch aus dem Pelargonienanthokyan bei der Kalischmelze Brenzkatechin entsteht.

Bestimmung der Hydroxylgruppen.

Die quantitative Bestimmung der Hydroxylgruppen wurde durch Acylierung vorgenommen. Eine Acetylierung mit Acetylchlorid erwies sich als zu stark in die Molekularstruktur eingreifend, es wurde also mit Essigsäureanhydrid ohne jeden Zusatz gearbeitet:

1·3764 *g* der vakuumtrockenen Substanz wurden mit zirka 20 *g* Essigsäureanhydrid eine Stunde am Rückflußkühler auf dem Wasserbade gekocht, nachdem sie in möglichst wenig verdünntem Alkohol gelöst worden war. Das Produkt besitzt nicht mehr die gelbrote Nuance des mit Zusatz von Säure in verdünntem Alkohol aufgelösten Anthokyans, sondern ist dunkelrot. Zur Entfernung der überschüssigen Essigsäure wurde mit Methylalkohol weiter gekocht und der entstandene Ester abdestilliert. Es hinterblieb eine tiefrote Flüssigkeit, die, in eiskaltes Wasser eingegossen, das Acetylprodukt in dicken braunen Flocken ausfallen ließ. Nach einigem Stehen war der Niederschlag vollkommen ausgeschieden und wurde abfiltriert, in Essigäther ist er glatt löslich und scheidet sich beim langsamen Abdunsten des Lösungsmittels in krystallinischen braunen Blättchen ab.

Die Verseifung des Acetylproduktes geschah mit Barythydrat, nachdem eine Anfeuchtung mit ein paar Tropfen Alkohol erfolgt war. Das verseifte Produkt wurde in der Kälte mit Phosphorsäure angesäuert, filtriert und gut gewaschen. Das tiefrote Filtrat wurde hierauf unter öfterer Erneuerung

des Wassers solange abdestilliert bis das Destillat absolut keine saure Reaktion mehr zeigte. Die Destillation erfolgte am Wasserbad im luftverdünnten Raum. Das Destillat wurde unter Zusatz von Barythydrat in der Platinschale eingedampft, das überschüssige Baryumhydroxyd mit Kohlensäure ausgefällt, das Filtrat vom kohlensauren Baryt zur Trockene abgedampft, mit Wasser aufgenommen, filtriert, gut gewaschen und schließlich das Baryum durch Ausfällen mittels Schwefelsäure in der Siedhitze quantitativ abgeschieden.

1 Gewichtsteil $BaSO_4$ entspricht 0·5065 Gewichtsteilen $C_2H_3O_2$.[1]

1·5203 *g* des Acetylproduktes lieferten 0·6634 *g* $BaSO_4$; daher entsprechen diese 0·3360 *g* $C_2H_3O_2$, was für die verwendete Menge des Acetylproduktes, dessen Molekularformel entsprechend, zwei Acetylgruppen = zwei Hydroxylgruppen bedeutet.

Ermittlung der Karboxylgruppen.

Wenn man die wässerige Lösung des Anthokyans mit Schwefelsäure ansäuert und mit verdünnter Kalilauge sehr vorsichtig gerade bis zur Neutralisation bringt, erhält man nach längerem Stehen und Abdunsten des Wassers die Kaliverbindung des Farbstoffes in ganz ähnlicher Weise wie das schon früher beim Malvenfarbstoff gelungen war, als grünlichroten Niederschlag, der gewaschen und bei 100° getrocknet wurde. Das Kalisalz wurde der Elementaranalyse unterworfen. Beim Erhitzen bläht sich die Substanz stark auf, ähnlich wie eine Pharaoschlange und verbrennt sehr langsam. Übrigens möge bei dieser Gelegenheit nicht unerwähnt bleiben, daß auch das freie Anthokyan zu den schwer verbrennlichen Substanzen gehört, so daß bei den ersten, in gewöhnlicher Weise durchgeführten Elementaranalysen ein Zurückbleiben von Kohle im Schiffchen beobachtet wurde. In der Folge wurde die Substanz im Nickelschiffchen verbrannt, mit Bleichromat überschichtet und die Analysen durchwegs unter Durchleitung reinen Sauerstoffs bewirkt.

---

[1] H. Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, p. 342.

Die gewogene Menge der Kaliverbindung wurde mit einer Mischung von Bleichromat mit $^1/_{10}$-Kaliumbichromat im Nickelschiffchen überschichtet, um eine gänzliche Austreibung der Kohlensäure zu veranlassen. Aber auch eine direkte Bestimmung des Kaliums wurde durchgeführt: 0·205 *g* der Substanz wurden bei möglichst niederer Temperatur im Platintiegel verkohlt, in die kohlige Masse einige Krystalle reinen schwefelsauren Ammoniums eingebracht, mit etwas Wasser die Masse vorsichtig zusammengespült, hierauf durch ganz allmähliches Erhitzen Wasser und Ammonsalze vertrieben. dieselbe Operation mit salpetersaurem Ammon wiederholt und schließlich geglüht. Es hinterblieben 0·0877 *g* K_2SO_4, entsprechend 0·0393 K = 19·2% K. Das stimmt so ziemlich mit der Annahme einer dreibasischen Säure überein, welche bei einer Molekularformel $C_{18}H_{26}O_{13}$ 20·75% K verlangen würde. Auch mit anderen Basen wie Barythydrat, Aluminiumhydroxyd lassen sich solche Salze herstellen, welche sich in ihrer Färbung voneinander unterscheiden, stets amorph ausfallen und wohl als Farblacke anzusprechen sind.

Behandlung mit Natriumbisulfit.

Trotz des gegenüber dem Malvenanthokyan abweichenden Farbcharakters wurde auch hier eine Behandlung mit Natriumbisulfit durchgeführt. Es zeigte sich dieselbe Erscheinung wie dort, nämlich eine Entfärbung, beziehungsweise blaßgelbe Färbung des roten Farbstoffes beim Behandeln mit frisch bereiteter konzentrierter Natriumbisulfitlösung, mit welcher die alkoholische Lösung andauernd, zuletzt unter Erwärmen geschüttelt wurde. Die feste, krystallisierte, farblose oder schwach gelbliche Substanz ist dieselbe, welche auch bei Einwirkung von Schwefeldioxyd auf das Anthokyan entsteht. Bei der Behandlung mit Natriumbisulfit ist, was ja bei Schwefeldioxyd denkbar wäre, an eine Reduktionswirkung kaum zu denken, es dürfte sich vielmehr auch hier um eine Additionswirkung durch eine oder mehrere Karbonylgruppen oder eine andere Doppelbindung im Molekül handeln, durch welche das $NaHSO_3$ gebunden und gleichzeitig die chromogene Gruppe unwirksam

gemacht wird. Durch Einwirkung von einigen Tropfen Mineralsäure wird die charakteristische rote Anthokyanfarbe wieder hergestellt, die chromogene Gruppe also wiederum freigemacht. Eine ähnliche Erscheinung ist von der Holzsubstanz her bekannt, wo ebenfalls nach Nickel und Seliwanow Durchtränkung des Holzes mit Natriumbisulfit das Eintreten der Wiesner'schen Farbenreaktionen mit Phloroglucin etc. verhindert. Auch hier werden die chromogenen Gruppen der Holzaldehyde Vanillin, Methylfurfurol durch das Natriumbisulfit gebunden.

Die durch Natriumbisulfit entfärbte Lösung wurde zunächst durch Eindampfen im Vakuum am Wasserbad und dann durch völliges Entwässern über Chlorcalcium im Vakuumexsikkator völlig zur Trockene gebracht und stellt eine leicht gelbliche, äußerst zerfließliche Krystallmasse von angenehmem anisähnlichen Geruch dar. In Wasser und wässerigen Flüssigkeiten aller Art ist sie löslich, in Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff. Amylalkohol unlöslich. Bezüglich der Darstellung des Anthokyanbisulfits verweise ich auf meine erste diesem Gegenstand gewidmete Abhandlung. Verfahren und Eigenschaften des hier erhaltenen Produktes decken sich mit dem dort erhaltenen vollständig, mit Ausnahme des Umstandes, daß hier das Bisulfit ein fester Körper ist. dort eine syrupöse Flüssigkeit darstellt, und daß hier das aus der Bisulfitverbindung regenerierte Anthokyan in Krystallen wieder zurückgewonnen werden konnte. Die Analyse der Bisulfitverbindung und damit die Bestimmung der Anzahl der Carbonylgruppen wurde nach Ripper[1] durchgeführt. Versetzt man die wässerige Lösung der Substanz, in welcher auf Aldehydgruppen zu prüfen ist, mit einer überschüssigen Menge Alkalibisulfitlösung, deren Gehalt an schwefliger Säure vorher durch Jod ermittelt worden ist, so wird nach kurzer Zeit aller vorhandener Aldehyd an das Alkalibisulfit gebunden, welches angelagerte saure schwefligsaure Kali durch Jod nicht oxydierbar ist. Bestimmt man nun die nicht gebundene schweflige Säure, so hat man in der Differenz zwischen der gesamten, in der Alkalibisulfitlösung

[1] Monatshefte für Chemie, *21*, 1079.

enthaltenen und der durch den Aldehyd gebundenen schwefligen Säure ein Maß für den zu untersuchenden Aldehyd.

Von der vakuumtrockenen Substanz wurden 0·922 *g* in zirka 100 cm^3 Wasser und möglichst wenig Alkohol aufgelöst und von dieser Lösung 25 cm^3 zu 10 cm^3 der $NaHSO_3$-Lösung zufließen gelassen und solange unter ganz gelindem Erwärmen geschüttelt, bis die erwähnte schmutziggelbe Farbe statt der ursprünglichen roten sich eingestellt hatte. Der Jodwert der Natriumbisulfitlösung wurde inzwischen in der Weise bestimmt, daß zu 50 cm^3 einer genau eingestellten $\frac{n}{5}$ Jodlösung aus einer Bürette die zu prüfende Bisulfitlösung zufließen gelassen wurde. 50 cm^3 verbrauchten 16·3 cm^3 $NaHSO_3$; es entspricht also 1 cm^3 der Natriumbisulfitlösung 0·00188336 *g* SO_2. Nun wurde abermals zu einer abgemessenen Menge der Jodlösung die 35 cm^3 der Anthokyanbisulfitverbindung zufließen gelassen.

10 cm^3 der $NaHSO_3$-Lösung entsprechen 30·7 cm^3 der $\frac{n}{5}$ Jodlösung. Nun wurden zu 30·7 cm^3 der Jodlösung die Lösung des Anthokyanbisulfits zufließen gelassen und ein Verbrauch von 0·7 cm^3 Jodlösung durch den Aldehydanteil des Anthokyans festgestellt.[1] Die Aldehydmenge berechnet sich demnach aus der Gleichung:

$$\frac{J \times M}{253 \cdot 06} = \frac{0 \cdot 7 \,.\, 0 \cdot 025306 \,.\, 450}{253 \cdot 06} = 0 \cdot 0316\, g,$$

d. i. für die verwendeten 0·922 *g* Substanz 0·1264 *g* = 13·71%. Zwei Aldehydgruppen würden für eine Substanz mit dem Molekulargewicht 450 die Zahl von 12·88% ausmachen. Es ist allerdings fraglich, ob dieser Wert den vorhandenen Tatsachen wirklich entspricht und nicht vielleicht nur einen

---

[1] Nach Legler, Pharmac. Zentralhalle 1905, 272 läßt man die nicht angesäuerte, luftfreie Sulfitlösung zu einem Überschuß der ebenfalls nicht angesäuerten Jodlösung fließen und titriert den Jodüberschuß in gewöhnlicher Weise mit Natriumthiosulfat zurück. In dieser Modifikation wurde hier die Ripper'sche Methode angewendet, was für meinen Fall von Wichtigkeit ist, da bei der sonst üblichen Ansäuerung der Jodlösung die Anthokyanbisulfitverbindung sofort zerlegt worden wäre.

Zufallswert darstellt, weil naturgemäß die Titration der Jodlösung mit dem Anthokyanbisulfit ohne Säure durchgeführt werden mußte. Ich habe die erhaltenen Zahlen angeführt, weil sie mit anderen auf einem verschiedenen Wege erhaltenen recht gut übereinstimmen.

Die Lösung des Anthokyanbisulfits wurde in frisch bereitetes überschüssiges Bromwasser eingegossen, wobei sich nicht eine Spur Schwefeldioxyd entwickelte. Nachdem die Oxydation des Bisulfits vollzogen war, wurde anhaltend solange gekocht, bis kein Brom mehr entwich, in die siedend heiße Lösung 1 cm^3 Salzsäure getan, sodann mit siedend heißer Chlorbaryumlösung tropfenweise versetzt, der Niederschlag am Wasserbad absitzen gelassen, filtriert und sorgfältig gewaschen, das Filtrat mit dem Niederschlag im Platintiegel naß verbrannt und das Baryumsulfat vorsichtig geglüht und gewogen.

4·4385 *g* des Bisulfits gaben 3·2298 *g* $BaSO_4$ entsprechend 1·4478 *g* $NaHSO_3$ = 32·62%, während zwei Aldehydgruppen, respektive die von zwei Aldehydgruppen addierten zwei Moleküle $NaHSO_3$ 31·61% einer Substanz vom Molekulargewichte 658 (d. i. das Molekulargewicht meines Anthokyans 450 zuzüglich 2 $NaHSO_3$ = 208) ausmachen müßten. Das stimmt wie erwähnt, mit dem im vorgeschilderten Versuch gefundenen Befund von zwei Aldehydgruppen im Molekül des krystallisierten Anthokyans überein. Die Entfärbung des Anthokyans durch die Addition von Natriumbisulfit und die leichte Wiederherstellung der Farbe durch Abspaltung der Bisulfitgruppen läßt die Vermutung gerechtfertigt erscheinen, daß die Aldehydgruppen es sind, welche ebenso wie das für das Malvenanthokyan bewiesen wurde, den Farbcharakter des Anthokyans bestimmen und z. B. auch die Verfärbung der roten sauren Lösung durch Alkalien mitverschulden dürften. Wenn die Aldehydgruppen irgendwie verändert, sei es gebunden, sei es zerstört oder anderweitig verändert werden, geht auch die charakteristische Färbung verloren. Es wurde schon oben auf das auffällige von den übrigen Mineralsäuren abweichende Verhalten der oxydierenden Salpetersäure dem Anthokyan gegenüber hingewiesen. Aber auch durch Erwärmen mit

Wasserstoffsuperoxyd geht die rote Farbe in gelb über und die Alkaliverfärbung bleibt aus. Auch Behandlung mit Zinkstaub und Salzsäure oder Essigsäure, ja selbst Reduktion mit aktiviertem Aluminium, also einem vollkommen neutralen Reduktionsmittel läßt die Färbung verschwinden, offenbar infolge Veränderung der Aldehydgruppe. Die durch Oxydation und Reduktion aus dem Anthokyan entstehenden Produkte sind bisher einer weiteren chemischen Untersuchung noch nicht unterzogen worden. Freilich legt die große Labilität des Anthokyans, respektive seiner so leicht veränderlichen Gruppen nahe, daß es sich bei der Untersuchung der Anthokyanderivate um Produkte handelt, welche sich während der verschiedenen Operationen weitergehend verändert haben als der Experimentator beabsichtigt. Die leichte Veränderlichkeit der Karbonylgruppen, die eventuell leichte Abspaltung von Karboxylen wird durch die Häufung von negativen Gruppen wie sie im Anthokyanmolekül nachgewiesen sind, natürlich ungemein verstärkt.

Soweit heute unsere chemischen Erfahrungen bezüglich des Pelargonienanthokyans reichen, haben wir es hier mit einem aromatischen Kern zu tun, welcher zwei Hydroxyle, drei Karboxylgruppen und zwei Aldehydgruppen trägt und der Elementarformel $C_{18}H_{26}O_{13}$ entspricht, also $C_{13}H_{19}O_3 . (OH)_2 . (COOH)_3 . (COH)_2$. Daß es sich um ein Gerbstoffderivat handelt, bewies das Resultat der Kalischmelze, welche im Nickeltiegel in der Weise vorgenommen wurde, daß reines Ätzkali in wenig Wasser gelöst, bis zum ruhigen gleichmäßigen Fluß über freier Flamme erhitzt und die Substanz dann unter fortwährendem Rühren allmählich eingetragen wurde. Nachdem die Schmelze dünnflüssig geworden war, wurde sie ausgegossen, nach dem Erkalten in Wasser gelöst und mit Schwefelsäure angesäuert. Die erhaltene schwarzbraune Masse war nur zum Teil in Äther und in Wasser löslich. Die ätherische Lösung wurde von der braunen wässerigen Emulsion abgelassen, über geschmolzenem Natriumsulfat getrocknet und hinterließ nach Abdunsten des Äthers eine weiße Substanz, die erst nach wiederholtem Umkrystallisieren farblos erhalten wurde und besonders in alkalischer Lösung an der Luft sehr bald Grün-

und Schwarzfärbung zeigte. Mit Eisenchlorid entstand eine grüne Färbung, die mit etwas Soda in Violett überging. Bleiacetat lieferte ebenfalls eine Fällung, sämtlich Reaktionen, die für Brenzkatechin charakteristisch sind. Ich möchte daran erinnern, daß Brenzkatechin auch bei durchgreifender Kalischmelze der einen Komponente des Malvenanthokyans entstand, wie ja überhaupt diese beiden Anthokyanindividuen trotz ihrer verschiedenen Farbennuance und einiger abweichender Reaktionen gewisse verwandtschaftliche Ähnlichkeiten, das Vorhandensein eines aromatischen Kernes, von Karboxylgruppen, Hydroxylen und der Aldehydeigenschaften aufweisen. Die braune Substanz, welche bei der Kalischmelze neben Brenzkatechin entsteht, dürfte zur gänzlich unbekannten Klasse der Phlobaphene gehören und konnte bisher chemisch nicht näher charakterisiert werden. Wie erwähnt, erzeugen schon geringe Veränderungen im Aufbau des Anthokyanmoleküls jene »phlobaphen«-artige Mißfärbung und es bedarf dazu durchaus nicht einer so energischen Operation wie der Kalischmelze. Auch die zweite, nicht krystallisierte Anthokyankomponente dürfte ein Zwischenglied dieser Verwandlung darstellen, wie unten näher auszuführen sein wird, eine Veränderung, die aber nicht, wie man von vornherein glauben könnte, nur in einer Oxydation, sondern daneben auch in einer Abspaltung von Wasser ihre Grundlage hat. Dabei kommt es, vielleicht durch Verwandlung von Karboxylen in Karbonyle zu Gruppierungen, welche Veranlassung zu einer Kuppelung mit Zucker geben, denn die zweite Anthokyankomponente ist ein Glukosid. Der Gerbstoffcharakter des Anthokyans geht schon aus dem adstringierenden Geschmack dieser Substanz hervor. Die Orthostellung der Hydroxyle dürfte aus der leichten Abspaltbarkeit von Protokatechusäure bei sehr gelindem Eingriff wahrscheinlich gemacht werden können, vorausgesetzt, daß nicht auch hier schon Umlagerungen sich vollziehen. Bei der Anthokyanbildung ist auch der Schlüssel zu einem höchst interessanten chemischen Problem enthalten, nämlich zur Umwandlung von Zucker, dessen Darreichung bekanntlich die Anthokyanbildung fördert, in Substanzen der aromatischen Reihe. Eine solche Umwandlung findet sicher statt und

theoretisch ist gerade die Bildung von Phloroglucin oder eines anderen aromatischen Phenols sehr einfach darstellbar. $C_6H_{12}O_6 = C_6H_3(OH)_3 + 3\,H_2O$.[1]

Das Produkt einer solchen Umwandlung und weiteren Synthese ist auch das Anthokyan.[2] Über die Möglichkeit eines Überganges von einem Flavon zu einem mit Säuren intensiv roten Farbstoff, der allerdings die Umfärbung mit Alkalien nicht zeigt, siehe Kostanecki und Tambor.[3]

Darstellung eines mutmaßlichen Spaltproduktes.

Aber auch durch einen weniger energischen Eingriff als das Schmelzen mit Ätzkali vorstellt, kann man zu Abbauprodukten der krystallisierten Anthokyankomponente kommen. Es wurde schon früher erwähnt, daß Anthokyanlösungen, von denen ein auf dem Objektträger verdunstender Tropfen zahllose Anthokyanrosetten entstehen läßt, nach dem Eindampfen auf dem Wasserbad keine Krystalle, sondern lediglich einen roten Sirup aufweisen, in welchen zahlreiche farblose prismatische Krystalle eingelagert sind, deren Ecken bisweilen abgestumpft erscheinen, von welchen auch mitunter zwei zu Zwillingsgestalten zusammentreten. Beim Erkalten der Flüssigkeit setzt sich am Boden der Krystallsand an, welcher unter dem

---

[1] V. Grafe in Abderhaldens Biochemischen Handlexikon, II. Bd., p. 551 und C. Neuberg, Biochem. Zeitschr., *9*, 551 (1908).

[2] Während des Druckes dieser Abhandlung erschien eine sehr interessante Arbeit von A. Czartkowski »Einfluß des Phloroglucins auf die Entstehung des Anthokyans bei *Tradescantia viridis*«, Sitzber. d. Warschauer Ges. d. Wiss., 1911, Lieferg. 1, in welcher die vorstehende Hypothese ihre experimentelle Bestätigung erfährt. Es zeigte sich nämlich bei der Kultur der Zweige von *Tradescantia viridis* in Lösungen verschiedener Zuckerarten plus einigen mehrwertigen Phenolen und Phloridzin, daß bei dieser Pflanze die Schnelligkeit der Anthokyanbildung mit der Konzentration der Zuckerlösung zunimmt, was auf dessen glykosidische Natur hindeute, und daß von den mehrwertigen Phenolen zur Anthokyanbildung nur das Phloroglucin oder das Phloridzin Verwendung finden kann; und zwar entsteht es schneller in Lösungen, die gleichzeitig 2% Dextrose und 0·05% Phloroglucin enthalten als in Dextrose- oder in Phloroglucinlösungen allein.

[3] Versuch einer Synthese gelber Pflanzenfarbstoffe. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1904, I, p. 792.

Mikroskop die vorerwähnten Gestalten erkennen läßt. Bei längerem Stehen wird der Niederschlag reichlicher, wie man ihn überhaupt auch in reinen Eisessig-Anthokyanlösungen nach längerer Aufbewahrung findet. Die abfiltrierten farblosen Krystalle sind in warmem Wasser leicht, in kaltem ziemlich schwer löslich und lassen sich aus Wasser mit Leichtigkeit umkrystallisieren und völlig farblos gewinnen; sie lösen sich auch in warmem Alkohol und in Äther, sind aber in Benzol und Petroläther unlöslich. Die Substanz schmeckt herb, zusammenziehend, gerbstoffartig. Ursprünglich hielt ich die Substanz für ein Chromogen des Anthokyans und versuchte durch Spaltung der vermuteten Muttersubstanz mittels Salzsäure zum Anthokyan zu gelangen, jedoch ohne Erfolg. Ein Versuch, aus den Laubblättern der Pelargonie durch Eisessig zu der Substanz zu gelangen, lieferte ebenfalls kein Resultat; es traten wohl auch hier farblose Krystalle auf, die aber einen ganz anderen Habitus zeigten, sich übrigens zum größten Teil als anorganischer Natur erwiesen, während die aus Anthokyanlösungen stammende Substanz am Platindraht sofort verkohlt und dann völlig verbrennt. Auch aus alkalisch gemachten (mit Kalilauge) Anthokyanauszügen ließen sich nach Ansäuern mit Schwefelsäure diese Krystalle gewinnen. Die Krystalle der Kaliverbindung zeigten beim Verbrennen das auch für das Anthokyan selbst charakteristische Aufblähen und hinterließen, die Flamme violett färbend, einen gesinterten Rückstand von Kalikarbonat.

Die Elementaranalyse der bei 110° getrockneten Substanz lieferte folgende Zahlen:

0·2275 *g* Substanz ergaben 0·4495 *g* CO_2 und 0·0837 *g* H_2O.
0·1793 *g* Substanz ergaben 0·3550 *g* CO_2 und 0·0677 *g* H_2O.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_7H_6O_4$
	I	II	
C	53·9	54·0	54·7
H	4·1	4·2	3·9
O	42·0	41·8	41·4

Die Substanz gibt, in heißem Wasser aufgelöst und etwas angesäuert, mit Eisenchlorid eine Grünfärbung, die auf Zusatz

von Sodalösung in ein tiefes Rot überging. Die mikroskopische Krystallform stimmt mit der von H. Behrens in der Anleitung zur mikrochemischen Analyse, 4. Heft, p. 84 für Protokatechusäure angegebenen völlig überein und ich sehe daher von einer mikrophotographischen Wiedergabe der Krystalle, welche ich ursprünglich beabsichtigt habe, ab. Übrigens wäre diese Krystallform, welche sehr vielen organischen Verbindungen eigen ist, weniger maßgebend als die oben beschriebene Reaktion mit Eisenchlorid und das Ergebnis der Elementaranalyse sowie der Schmelzpunktbestimmung.

Die Kalibestimmung der aus der alkalischen Anthokyanlösung gewonnenen Substanz, in der vorher beschriebenen Weise durchgeführt, ergab als Kaligehalt 20·62%, während derselbe für protokatechusaures Kali mit 20·31% sich berechnet. Die vorliegende Substanz erscheint damit als Protokatechusäure charakterisiert.

Da sie beim Abdampfen des Eisessigs der Anthokyanlösung am Wasserbad sich bildet, während die Krystalle vorher in den Anthokyanlösungen nicht beobachtet wurden, erscheint sie als ein schon bei diesem gelinden Prozeß entstehendes Spaltungsprodukt des sehr labilen Anthokyanmoleküls, dessen Krystallform damit verloren zu gehen scheint, während die Farbe, welche an die Karbonylgruppe in ihrer Stellung zu anderen Seitenketten gebunden sein dürfte, dadurch nicht wesentlich berührt zu sein scheint. Immerhin möchte ich mich bezüglich der hierbei als Spaltungsprodukt auftretenden Protokatechusäure mit einiger Reserve äußern, da es ja doch nicht ganz ausgeschlossen ist, daß die Säure aus dem Ausgangsmaterial mitgeführt worden ist.

Von der Anschauung ausgehend, daß die Protokatechusäure als Spaltungsprodukt des Anthokyans angesehen werden könnte, versuchte ich es, von ihr durch Anlagerung anderer Substanzen vielleicht wieder zu einem roten Farbstoff zu gelangen. Es möge an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß es gelingt, Protokatechualdehyd oder Protokatechusäure in wässeriger oder alkoholischer Lösung nach Zufügen von Wasserstoffsuperoxyd und einigen Tropfen Salzsäure mit einer alkoholischen Lösung von Vanillin in der Hitze zu einer roten

bis rotbraunen Farbe zu kondensieren, welche mit Alkalien allerdings nicht die bekannten Anthokyanumfärbungen, sondern ein mißfarbiges Tiefbraun mit darauffolgendem braunen Niederschlag ergibt.

Untersuchung des amorphen Anthokyananteiles.

Bei der Dialyse essigsaurer Anthokyanlösungen hinterbleibt im Pergamentschlauch stets eine rote Flüssigkeit, auch wenn das Wasser außerhalb so oft gewechselt wird, bis es keine Färbung mehr annimmt. Je mehr vom krystallisierbaren Anteil in die Außenflüssigkeit diffundiert, desto mehr verändert sich die Farbe der Flüssigkeit innerhalb des Dialysierschlauches in Rotbraun. Nebenbei gesagt ist es dieselbe Farbe wie sie entsteht, wenn man das vorher beschriebene Spaltungsprodukt in angesäuertem Wasser löst, mit Eisenchlorid versetzt und dann mit Soda neutralisiert. Beim Eintrocknen dieser Flüssigkeit erhält man dunkelbraune amorphe Krusten und Schollen, welche lackartig glänzen und durch kein Mittel zur Krystallisation zu bringen waren. Auch beim Eintrocknen eines Präparates aus dem ursprünglichen Blütenauszug kann man beobachten, daß niemals die gesamte Flüssigkeit oder auch nur deren Hauptmenge sich in Anthokyankrystalle verwandelt, sondern diese in einer roten Masse eingebettet erscheinen, welche neben der Mutterlauge der krystallisierten Anthokyankomponente zweifellos viel von dem amorphen Anteil enthält. Ja, das amorphe Anthokyan bildet sogar den hauptsächlichsten Anteil des Blütenanthokyans.

Wie schon früher dargelegt, gelingt es auch auf anderem Wege die beiden Anteile zu trennen. Die Substanz ist nach dem Eintrocknen in reinem Wasser auch beim Erwärmen schwer löslich, leicht löslich dagegen mit verdünntem Alkohol; Säuren erzeugen nicht die orangerote Tönung des krystallisierten Anthokyans, Salpetersäure erzeugt aber ebenfalls eine hellere, etwa weingelbe Farbe, schweflige Säure entfärbt beim Schütteln und Erwärmen ebenfalls nahezu, ebenso Natriumbisulfit, Alkalien erzeugen einen braungrünlichen Farbenton. Im ganzen sind hier die Farbenreaktionen des Anthokyans bei

weitem nicht so ausgesprochen wie bei der vorbeschriebenen Komponente.

Die Elementaranalyse der schwerverbrennlichen Substanz lieferte folgende Werte:

I. 0·1495 *g* Substanz lieferten 0·2399 *g* CO_2 und 0·0837 *g* H_2O.
II. 0·1820 *g* Substanz lieferten 0·2975 *g* CO_2 und 0·1133 *g* H_2O.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_{24}H_{44}O_{20}$
	I	II	
C	43·78	44·59	44·17
H	6·22	6·99	6·75
O	50·0	48·42	49·08

Die Molekulargewichtsbestimmung, in der vorher beschriebenen Weise nach Eykman durchgeführt, lieferte den Wert:

Phenol: 8·67 *g*
Substanz: 0·3100 *g* } Konstante für Phenol: 76.

Erniedrigung des Gefrierpunktes als Mittel dreier aufeinanderfolgender und aufeinander stimmender Bestimmungen: 0·41° C., entsprechend einem Molekulargewichte

	Gefunden	Berechnet für $C_{24}H_{44}O_{20}$
$M = K \cdot \frac{100 . S}{\Delta . L} =$	663	652

Wenn man versucht, sich ein Bild über die Beziehungen der beiden Anthokyankomponenten zu machen, so ergibt sich folgendes. Die Lösungen der amorphen Komponente reduzieren Fehling'sche Lösung sofort beim Erwärmen, während das die Auflösungen des krystallisierten Anteiles nicht tun. Daraus ergibt sich, daß das Molekül jener mit einer Monose in Verbindung stehe. Durch Kochen der mit einigen Tropfen Alkohol versetzten wässerigen Lösung mit Schwefelsäure kann man den Zucker abspalten, welcher sich gemäß dem Schmelzpunkt seines Osazones als Dextrose erwies. Bei der Hydrolyse ergab sich allerdings auch eine Abspaltung von Furfurol, das mit

dem Schiff'schen Reagens nachgewiesen werden konnte. Dieses Verhalten erinnert an das Anthokyan aus Malvenblüten. Jedenfalls ist dadurch nachgewiesen, daß es sich bei der amorphen Anthokyankomponente um ein Glykosid handelt. Man könnte sich das krystallisierte Anthokyan aus dem amorphen etwa durch folgenden Vorgang entstehend denken:

$$C_{24}H_{44}O_{20} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{18}H_{34}O_{15}$$
$$C_{18}H_{34}O_{15} - 4\ H_2O + O_2 = C_{18}H_{26}O_{13}$$

Es herrscht also hier eine ähnliche Beziehung wie zwischen den beiden Anteilen des Malvenfarbstoffes. Wie der Vorgang im Pflanzenkörper sich vollzieht, darüber lassen sich natürlich nur Vermutungen äußern, es erscheint mir aber wahrscheinlicher, daß durch Veränderung der krystallisierten Komponente die amorphe entsteht und nicht umgekehrt, was von vorneherein, besonders mit Rücksicht auf die Overton'schen Versuche, in welchen Zuckerdarreichung zur Anthokyanbildung führte, als das wahrscheinlichere erscheinen könnte.

Das krystallisierte Anthokyan ist, wie erwähnt, sehr labil und man kann besonders im Blütenblatt selbst die Verfärbung in Braun sehr bald, z. B. beim Trocknen eintreten sehen, während niemals die Bildung krystallisierten Anthokyans aus dem amorphen stattfindet. Die Anthokyanbildung bei Zuckerzufuhr scheint mir vielmehr nicht auf primärer Bildung der glukosidischen Komponente zu beruhen, aus der etwa dann durch Zuckerabspaltung der krystallisierte Anteil entsteht, sondern der Zucker dient wahrscheinlich im Sinne der oben angeführten Hypothese zur Bildung des aromatischen Gerbstoffkernes. Daß übrigens auch das Glukosid schon durch geringfügige Einflüsse verändert wird, zeigt der folgende Versuch.

Frisch geerntete Blütenblätter der Scharlachpelargonie wurden zum Trocknen in losen Haufen geschichtet an die Sonne gelegt. Aus diesen Blättern erhielt man durch Zerzupfen eines derselben am Objektträger und Einlegen in Eisessig in ausgezeichneter Weise die Molisch'schen Krystallrosetten. Eine Zuckerbestimmung dieser Blätter, nach dem maßanalytischen

Verfahren von J. Bang[1] ausgeführt, ergab für 10 cm^3 des Extraktes:

Zur Reduktion verbraucht: 36·40 cm^3 Hydroxylamin = 12 *mg* Zucker. Die zur Zuckerbestimmung verwendete Probe wurde mit 50prozentigem Alkohol durch Kochen am Rückflußkühler ausgezogen, im Extrakt durch Fällung mit Bleiacetatlösung die störenden Eiweißstoffe entfernt, nach mehrstündigem Stehen abfiltriert und in je 10 cm^3 des Extraktes die Zuckerbestimmung durchgeführt. Nach zwei Tagen Trocknens zeigten die Blätter bereits nicht mehr ihren schönen scharlachroten Farbenton, sondern es war bereits eine bräunliche Nuance beigemischt, so als ob eine Bildung der amorphen Komponente aus der krystallisierten stattfände. Das mikroskopische Präparat, der Probe von Molisch unterworfen, zeigte in der Tat nur spärliche Krystallaggregate in einer bräunlichen Flüssigkeit eingeschlossen. Bei der angestellten Zuckerbestimmung verbrauchten 10 cm^3 des Extraktes 30·55 cm^3 Hydroxylamin = 18 *mg* Zucker. Nach weiteren vier Tagen, als die Blätter vollkommen getrocknet waren, zeigten sie auch nicht eine Spur der ursprünglichen Anthokyanfärbung, sondern erschienen braun, mißfarbig, die Eisessigprobe fiel negativ aus. Die Zuckerbestimmung ergab einen Verbrauch von 21·75 cm^3 Hydroxylamin, also einen Gehalt von 28 *mg* Zucker. Mit der sukzessiven Trocknung und Braunfärbung wurde auch ein eigenartiger Geruch wie nach erwärmtem Kino wahrnehmbar und auch der nunmehr adstringierend gewordene Geschmack der Blätter deutete auf eine Vermehrung freien Gerbstoffes hin. Bei fortgesetzter Trocknung erscheint also die Zucker- und Gerbstoffmenge mit der chemischen Veränderung des krystallisierten Anthokyans Hand in Hand eine Vermehrung zu erfahren. Es macht den Eindruck, als wäre etwa im Sinne der oben aufgestellten Gleichung, welche natürlich nur als Schema zu betrachten ist, durch Abgabe von Sauerstoff und Anlagerung der Elemente des Wassers der labile Körper $C_{18}H_{34}O_{15}$ entstanden, welcher sofort das Glukosid $C_{24}H_{44}O_{20}$ durch Aufnahme von Zucker bildet. Nun wird aber auch dieses Glukosid

[1] J. Bang, Biochem. Zeitschr., Bd. 2, p. 271 (1906).

im absterbenden Blatt, etwa durch Enzymwirkung rasch gespalten, der gebundene Zucker frei, daher die beobachtete im wachsenden Verhältnis sich steigernde Zuckervermehrung, während der an Zucker gekettet gewesene unbeständige Rest, vielleicht durch Oxydation und dergleichen sich weiter verändert, so daß der gerbstoffartige Kern zurückbleibt. Ich möchte daher die amorphe Anthokyankomponente als ein Zersetzungsprodukt des krystallisierten Anthokyans ansehen, welches sich sehr rasch weiter verändert. Daher dürfte auch den chemischen Konstanten dieser Komponente nicht allzuviel biologischer Wert beizulegen sein, denn sie repräsentieren meiner Auffassung nach die chemischen Eigenschaften jenes Abbauproduktes eben gerade in dem Zustand, in welchem es aus dem Zelleben herausgerissen wurde. Freilich liegt auch die Möglichkeit vor, daß jener Anthokyananteil in der lebenden Zelle weit beständiger ist und nur außerhalb derselben sich unter den Händen des Experimentators verändert. Das gilt ja überhaupt für die Gesamtheit des Anthokyans, das sich, isoliert, als höchst labiler Stoff erweist, während es im Verbande der Zelle mit Leichtigkeit zur Krystallisation gebracht werden kann und den Eindruck einer sehr gut definierbaren Substanz macht.

Das amorphe Anthokyan liefert mit Eisenchlorid eine schmutziggrüne Färbung, die bei Zusatz von Sodalösung in braunrot übergeht. Die Orthostellung der Hydroxylgruppen erscheint also hier noch erhalten. Auch die Karbonylgruppen sind noch, aus der Verfärbung mit Natriumbisulfit zu schließen, vorhanden. Dagegen gelang es nicht behufs Darstellung von Salzen einheitliche Resultate zu erhalten, vielleicht greift also die Veränderung des Anthokyanmoleküls an den Karboxylgruppen an, welche wohl auch die Nachbarschaft der negativen Gruppen zur Abspaltung disponieren mag. Was die Reaktionen mit Oxydantien anlangt, so verliefen diese im selben Sinne wie das beim krystallisierten Anthokyan geschildert worden ist. Auf Zusatz konzentrierter Salpetersäure blieb die Farbe braunrot, nach gelindem Erwärmen aber setzte eine heftige Reaktion ein, Gasentwicklung, starke spontane Erwärmung, welche den zum Lösen verwendeten Alkohol rasch zur Verdampfung

brachte, Auftreten eines Geruches nach Äthylnitrit und Verfärbung der Anthokyanlösung in Hellgelb.

In ihrer neuesten Arbeit über das Anthokyan geht Miss Wheldale[1] von dem Gedanken aus, daß die Farbstoffe der Anthokyanreihe Oxydationsprodukte von farblosen Chromogenen mit aromatischem Kern seien, welche sich in den lebenden Pflanzengeweben in Kombination mit Zucker als Glykoside finden. Das Chromogen könne aber erst dann in Anthokyan übergehen, nachdem es sich vom Zucker getrennt habe. Die Menge des freien Chromogens und damit die des gebildeten Pigmentes ist zu der Zuckerkonzentration umgekehrt, zu der Konzentration des Glukosids direkt proportional. Die Synthese von Chromogen und Zucker zu Glykosid, ebenso wie die Oxydation des freien Chromogens zu Anthokyan beruht auf Enzymwirkung. Mit dieser Hypothese steht die Tatsache gut in Übereinstimmung, welche O. Richter[2] zuerst nachgewiesen hat, nämlich das Ausbleiben der Anthokyanrötung junger Keimpflanzen in Leuchtgasatmosphäre oder »Laboratoriumsluft«. Es zeigt sich nämlich, daß bei solchen in Leuchtgasatmosphäre gehaltenen Keimlingen immer eine starke Anhäufung wasserlöslicher Abbauprodukte, namentlich Aminosäuren und Zucker stattfindet, sei es, daß jene Bezirke des Plastids, denen der Abbau obliegt, widerstandsfähiger sind als die synthetisierenden, sei es, daß Abbau und Aufbau durch verschieden resistente Enzyme ausgeführt werden, sei es, daß sie Phasen eines und desselben Vorganges sind, bei welchem durch Einwirkung der betreffenden Gase eine Verschiebung des Gleichgewichtes nach der Seite der Abbauprodukte hin stattfindet.

Die Anhäufung von Zucker allein kann also noch nicht zur Anthokyanbildung führen wie man aus den bekannten Versuchen von Overton zu schließen verleitet wäre, sondern es sind offenbar die zur Anthokyanbildung führenden synthetisierenden Vorgänge hier ausgeschaltet. Das von Wheldale

---

[1] M. Wheldale, On the formation of Anthocyanin, Journ. of Genetics. Vol. I, No. 2 (1911).

[2] O. Richter, Über Anthokyanbildung in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Mediz. Klinik, 1907, Nr. 34.

postulierte Chromogen wäre dann mein hypothetischer Stoff $C_{18}H_{34}O_{15}$, der aus dem Glukosid $C_{24}H_{44}O_{20}$, meiner amorphen Anthokyankomponente durch Hydrolyse entstünde. Aus diesem aber wird, ganz wie es die Hypothese verlangt, durch Oxydation — allerdings muß man auch noch Entziehung von Wasser annehmen — das krystallisierte Anthokyan $C_{18}H_{26}O_{13}$. Aber in einem Punkte stimme ich mit Wheldale nicht überein, nämlich darin, daß ein Chromogen, eine Vorstufe des Anthokyans sich in den Pflanzen findet, wie etwa das Indikan oder das von Molisch[1] beschriebene Chromogen von *Schenckia blumenaviana* sondern daß es sich eher so verhält wie bei den Atmungspigmenten Palladin's. Ich glaube vielmehr, daß die hypothetische Substanz $C_{18}H_{34}O_{15}$ viel zu labil ist, um vorgebildet in den Blättern sich zu finden und glaube eher, daß jeder geeignete aromatische Kern unter Umständen sofort zu Anthokyan werden kann. Auch Palladin unterscheidet zwischen den aus stabilen Chromogenen entstehenden postmortalen Pigmenten und den aus irgendeiner labilen Substanz sich bildenden Atmungspigmenten. Wheldale nimmt an, daß die Oxydasen, welche in der lebenden Zelle Anthokyan erzeugen, nach dem Absterben derselben das braune postmortale Pigment bilden, und daß ersteres durch Antolyse in letzteres übergehe; als Beweis dafür wird angeführt, daß diejenigen Pflanzenorgane, welche am meisten Anthokyan enthalten, auch die größte Menge braunen Pigments bilden. Das ist gewiß richtig, denn hier addieren sich die über die Zwischenstufe des amorphen Anthokyans gehenden braunen Zersetzungsprodukte des Anthokyans zu den auch ohne Anwesenheit von Anthokyan entstehenden braunen postmortalen Farben, so daß der Eindruck der braunen Färbung anthokyanhältiger Pflanzenteile sehr verstärkt wird, ohne daß aber zwischen beiden chemische Identität herrschen dürfte.[2]

---

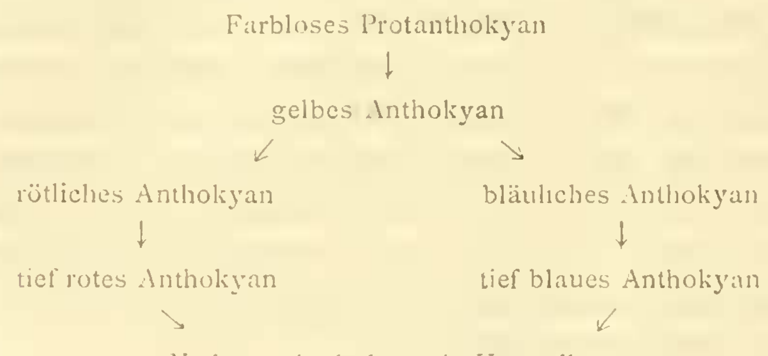
[1] H. Molisch, Über ein neues, einen karminroten Farbstoff erzeugendes Chromogen bei *Schenckia blumenaviana* K. Sch., Ber. d. Deutschen botan. Ges., Bd. 19, p. 149 (1901).

[2] Die Bildung eines »Protanthokyans« in den Blüten wurde von Ichimura (On the formation of Anthokyanin in the Petaloid Calyx of the red Japanese Hortense, Journ. of the College of Sciences Imp. Univ. of Tokyo,

Jedenfalls ist die Bildung von Anthokyan immer mit einer Oxydation verknüpft und dort, wo bei einem gewissen Reichtum an Atmungsmaterial die Oxydationsvorgänge beträchtliche sind, geht auch immer reichliche Anthokyanbildung mit ihnen Hand in Hand, so bei jungen, wachsenden Keimlingen, bei Verwundung und Einfluß von Parasiten. Über diesen Punkt der

---

Vol. 18, Art. 3, 1903/4) behauptet, nachdem Zopf schon in seiner Arbeit »Über die Gerbstoff- und Anthokyanbehälter der Fumariaceen und einiger anderer Pflanzen« 1886 ein farbloses Protanthokyan gefunden hatte, das in ein gelbes übergeht. Harvey »Observation on the colour of flowers« 1899, sagt, daß die Entwicklung des Farbstoffes in der Pflanze mit grün beginnt, dann in gelb, weiß und rot und schließlich in blau oder violett übergeht. Das von Ichimura gefundene farblose oder gelbliche Protanthokyan gibt folgende Reaktionen: Säuren verändern nicht, Alkalien färben gelb, Bleiacetat erzeugt einen gelben Niederschlag, $K_2Cr_2O_7$ einen braunroten, $FeCl_3$ einen tiefgrünen, nachfolgender Sodazusatz einen tiefblauen Niederschlag, Antipyrin und Koffein geben keine Reaktion. Das sind im wesentlichen Gerbstoffreaktionen und Ichimura spricht auch die Ansicht aus, daß das Protanthokyan, aus dem der gelbe, rote, tiefrote oder blaue Farbstoff entsteht, aus einem farblosen Gerbstoffkern besteht. Die Bildung von Anthokyan aus Protanthokyan sei nicht, außer bei *Parnassia palustris* durch das Sonnenlicht bewirkt; außerdem sei die Anwesenheit von Säure, Tannin und Zucker nötig, das letztere aber nur in den späteren Phasen der Entwicklung, so daß also der Zucker keinen engen Zusammenhang mit der Bildung von Anthokyan haben dürfte. Das Schema der Anthokyanbildung stellt Ichimura folgendermaßen auf:



Übrigens hat schon Wigand auf Grund histologischer Untersuchungen behauptet, das Substrat des Anthokyans sei ein dem Gerbstoff nahe verwandtes und aus ihm direkt hervorgehendes farbloses Chromogen. (A. Wigand, Einige Sätze über die physiologische Bedeutung des Gerbstoffes und der Pflanzenfarbe, Bot. Ztg. 1862, p. 123, zit. nach H. Molisch, Über amorphes und krystallisiertes Anthokyan, p. 160.)

Anthokyanfrage hat kürzlich R. Combes[1] ausgedehnte und gründliche Versuche bekannt gemacht. Die Gasanalysen ergaben, daß überall dort, wo Anthokyanbildung eintrat, die Oxydationsvorgänge stärker waren als unter gewöhnlichen Verhältnissen. Während der Farbbildung wird Sauerstoff gebunden, bei der Zerstörung des Anthokyans wird Sauerstoff frei. Auch Combes spricht dieselbe Anschauung aus, welche ich oben vertreten habe. »Die Anthokyanpigmente scheinen sich größtenteils nicht auf Kosten präexistierender Glukoside zu bilden, sondern sie entstehen vielmehr aus allen Stücken (de toutes pièces); die Anthokyanbildung, d. h. der phenolischen Glukoside, die durch ihre lebhafte Färbung ausgezeichnet sind, scheint durch Anhäufung von zuckerartigen Verbindungen hervorgerufen zu sein; deren lebhafte Zufuhr steigert die Intensität des Gaswechsels und scheint die Beschleunigung der Oxydationsprozesse zu bestimmen; die Bildung der Glukoside wird beträchtlicher und die unter solchen Bedingungen entstehenden Verbindungen sind, wenigstens zum Teil, die Anthokyane«. Die Ergebnisse der gasanalytischen Untersuchung, welche eine Fixierung von Sauerstoff bei der Bildung des Blütenfarbstoffes erweisen. stehen in vollem Einklang mit den Resultaten der chemischen Erforschung des Anthokyanfarbstoffes. Nach dem gewonnenen Formelbild verlangt die Bildung des Anthokyanfarbstoffes Sauerstoff, und Sauerstoff muß abgegeben werden, wenn die krystallisierte Anthokyankomponente in die amorphe übergeht, welche nur eine Zwischenstufe auf dem Wege zur Bildung der braunen Zersetzungsprodukte zu sein scheint.

Wenn Combes dem Anthokyan eine Rolle beim Atmungsprozeß zuweist, analog dem der intramolekular verarbeiteten organischen Säuren der Crassulaceen, so hat ja diese Anschauung mit Rücksicht auf die stark saure Natur des Anthokyanmoleküls manches für sich, um so mehr als nach meinen Untersuchungen die Karboxylgruppen des Anthokyans sehr leicht abspaltbar sein dürften, wie ja wahrscheinlich die

---

[1] R. Combes, Les échanges gazeux des feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthocyaniques. Révue gén. de Bot. T. XXII, 177 (1910).

durch Sauerstoffabgabe gekennzeichnete, mit der Bildung der amorphen Komponente beginnende Zerstörung des Anthokyans an den Karboxylgruppen angreift. Diese Frage kann aber kaum ohne weitere Versuche entschieden werden, auf Grund der Erscheinungen an albinotischen Pflanzen widerspricht Wheldale auch der Combes'schen Hypothese.

Wenn wir durch Ergründung der Chemie des Anthokyans der Bekanntschaft mit diesem Farbstoff allmählich näher kommen, ist es zum Schlusse vielleicht nicht uninteressant, einen Blick auf die bisherigen Bemühungen einer Synthese dieses Pflanzenfarbstoffes zu werfen.

S. Dezani fand in weißen Trauben zwei chromogene Stoffe, von denen der eine durch Bleiacetat fällbar war, der andere nicht. Durch Einwirkung von Salzsäure geben sie Farbstoffe, die sich dem Önocyanin analog verhalten. Sie entstehen aber nicht durch Oxydation, sondern durch hydrolytische Spaltung mit gleichzeitiger Bildung eines reduzierenden Stoffes. In den von chromogenen Substanzen befreiten Schalen befinden sich noch andere Stoffe, die sich mit Alkalien rot färben. J. Laborde stellte bei der Untersuchung der Gerbstoffsubstanzen grüner Traubenschalen fest, daß zwei Formen dieser Substanzen darin vorhanden sind, eine in starkem Alkohol lösliche und eine darin unlösliche, von denen die letztere vorherrscht. Während der Reife nimmt die unlösliche Form ab, die lösliche zu. Während des Überganges der chromogenen unlöslichen Substanz der grünen Schalen in die lösliche Form bildet sich bei den roten Trauben der Farbstoff, damit im Zusammenhang eine Abnahme der chromogenen Substanz, und zwar bei den grünen Trauben stärker als bei den roten. Bei den letzteren enthält der lösliche Anteil seit Beginn der Reife Farbstoff und nicht umgewandeltes Önotannin, nach beendigter Reife existieren diese Unterschiede nicht mehr. Die unlösliche Form wird bei der Reife in die lösliche verwandelt. Mit Salzsäure im Autoklaven bei 120° behandelt, geben diese Gerbstoffe rotgefärbte Lösungen.

Nach D. Malvezin geben grüne Traubenkerne von roten Trauben, im offenen Kolben auf 85° erhitzt, nach 17 Stunden eine starke Gelbfärbung infolge Bildung einer chromogenen

Substanz und nach 24 Stunden einen roten Farbstoff, bei Luftzutritt, während bei Luftabschluß die gelbe Farbe erhalten bleibt. Blätter, Ranken etc. der Weinstöcke liefern bei derselben Behandlungsweise nur gelbe, nicht in Rot übergehende Färbungen. Der rote Farbstoff hält sich nicht an der Luft, durch Erhöhung der Temperatur kann aber, offenbar durch Oxydation, die rote Farbe wieder hergestellt werden. Nach einigen aufeinanderfolgenden Oxydationen und Entfärbungen verliert er indessen diese Fähigkeit.

Behandelt man die festen Bestandteile grüner Trauben 30 Minuten mit zweiprozentiger HCl unter Druck bei 120°, so erhält man eine prächtig weinrote Flüssigkeit, während der Rückstand an alkoholhältiges Wasser noch viel Farbstoff abgibt. Auch die jungen Sprosse weißer oder roter Trauben, die eingetrockneten Trester geben diese Reaktion, welche auf einer Umwandlung der Tannoide allein (Glykoside sind nicht vorhanden) zurückzuführen ist. Es entsteht ein in saurem Wasser löslicher roter Farbstoff, ein in reinem Wasser sehr wenig löslicher, in alkoholhaltigem leicht löslicher roter Farbstoff und ein brauner in Wasser und Alkohol unlöslicher, der an den durch tiefgreifende Oxydation unlöslich gemachten Farbstoff des roten Weines erinnert. Die gleichen chromogenen Eigenschaften kommen auch den Tannoiden des Hopfens, des Kirsch- und Pflaumenbaumes, des wilden Weines, nicht aber der Eiche zu. Diese Wirkung der verdünnten Salzsäure hat mit der der verdünnten Schwefelsäure auf Tannine nichts zu tun, vielmehr handelt es sich hier um eine der Bildung von Gallussäuren aus Gallusgerbsäuren analoge Reaktion. Erhitzt man die 2 Prozent KOH enthaltende Lösung eines dieser Tannine einige Augenblicke zum Sieden und setzt die Flüssigkeit sodann einer genügenden Lüftung aus, so nimmt sie auch hier noch eine intensive weinrote Färbung an. Bei der aus den Kernen weißer oder roter Trauben hergestellten Flüssigkeit schlägt die weinrote Färbung bei fortgesetzter Oxydation innerhalb einiger Stunden oder beim Ansäuern in Hellgelb um, kehrt aber mit der Alkalinität wieder. Das Gallotannin liefert auch unter anderen Bedingungen als durch Erhitzen mit Salzsäure unter Druck einen roten Farbstoff. Wenn man nämlich

eine Lösung von Tannin in Wasser mit 20 cm^3 HCl und 5 cm^3 einer 40 prozentigen Formollösung vermischt und dem Sonnenlicht aussetzt, so erhält man unter Fällung des Tannins einen reichlichen Niederschlag, der nach einigen Tagen rotviolett wird; im Dunkeln bildet sich der Farbstoff sehr langsam. Der Niederschlag ist in alkoholhaltigem Wasser mit rotvioletter Farbe löslich und wird durch Ammoniak graublau, durch Kalilauge schmutziggrün. An der Luft oxydiert sich die Lösung allmählich, wobei der rote Farbstoff gelb und unlöslich wird. Die rote Färbung durch salzsäurehaltiges Wasser und Formaldehyd tritt bei allen untersuchten Gerbstoffen ein. So wie die Einwirkung von Salzsäure bei 120° auf Önotannin, so ist auch die der Salzsäure und des Formols in der Kälte auf Gerbstoffe katalytischer Natur, da keines der beiden Agentien sich an der Reaktion beteiligt. Der Formaldehyd wirkt wie ein Enzym, während die Salzsäure ein für die Reaktion günstiges Medium schafft. Der rote Farbstoff stammt von einem chromogenen Kern ab, der phenolische Natur besitzt wie alle Tannine.

Nach meinen Untersuchungen sind es Aldehydgruppen, welche die charakteristischen Farbeigenschaften der Anthokyane bedingen. Es wird sich also darum handeln, ein Aldehydsystem mit einem aromatischen Gerbstoffkern in Kombination zu bringen, welcher, etwa wie die Gallussäure, neben der Karboxylgruppe noch Hydroxyle trägt. Es wurde schon des Versuches Erwähnung getan, das mutmaßliche Spaltungsprodukt des Pelargonienanthokyans, das sich als Protokatechusäure herausstellte, durch Kuppelung mit Vanillin zu einem roten Farbstoff zu kondensieren. Solche Versuche sind gegenwärtig im Gange, es soll seinerzeit darüber berichtet werden. Ebenso möchte ich mir die Vertiefung und Weiterführung der hier geschilderten Versuche, ebenso wie die chemische und physiologische Untersuchung noch anderer Farbstoffe der Anthokyanreihe vorbehalten.

Zusammenfassung.

Nach einer Reihe vergeblicher Versuche, den Farbstoff des Rotkrautes in krystallisierter Form zu gewinnen, wurden die Blütenblätter der Scharlachpelargonie als Ausgangsmaterial gewählt und aus diesen nach dem von Molisch angegebenen Verfahren, Behandlung mit Essigsäure, das Anthokyan extrahiert. Es gelang, durch Ausschütteln mit Äther die Extrakte ganz rein, namentlich frei von *n*-Nonansäure, und den Anthokyanfarbstoff im großen in schönen Krystallnadelbüscheln darzustellen. Durch Pergamentschläuche oder tierische Blase dialysierte Extrakte liefern ein tiefgelbrotes, krystallisierendes Dialysat und eine innerhalb des Dialysators verbleibende braunrote Flüssigkeit, welche zu einer amorphen Masse eintrocknet. Auch durch Eingießen der durch Ton filtrierten Eisessigextrakte in viel Äther läßt sich der amorphe Anteil vom krystallisierenden trennen, indem jener dabei in braunen Flocken ausfällt, ferner durch Fällen mit Bleiacetat, wodurch nur der krystallisierende Anteil als dunkelvioletter Niederschlag sich abscheidet. Aus 28 *kg* der Blütenblätter wurden schließlich zirka 10 *g* des krystallisierenden und 15 *g* des amorphen Anteiles gewonnen.

Die krystallisierende Komponente ist höchst labil, hygroskopisch und verwandelt sich namentlich in der Wärme sehr schnell in eine amorphe Masse. Beim Abtreiben des Lösungsmittels aus den Extrakten am Wasserbad bildet sich eine weiße Krystallmasse, die unter dem Mikroskop schöne, farblose Prismen zeigt und als Protokatechusäure bestimmt wurde. Es ist vielleicht ein Spaltungsprodukt des Anthokyans. Die krystallisierte Anthokyankomponente hält sich unzersetzt nur im Vakuum über Ätzkali.

Der Schmelzpunkt liegt bei 270°, wobei sich das Präparat zersetzt. Der Farbstoff wird durch Säuren tiefrot, durch Alkalien grünrot ohne den Neutralisationspunkt durch Farbenänderung deutlich anzuzeigen, erst in großer Verdünnung deutlich grün, durch Oxydantien, besonders schnell beim Erwärmen gelb. Mit Eisenchlorid blauviolett, bei nachfolgendem Sodazusatz gelb, durch andere Gerbstoffreagentien nicht verändert.

Die Substanz krystallisiert mit 2 Molekülen Krystalleisessig, die im Vakuum über Ätzkali bei ganz gelindem Erwärmen verschwinden. Sie entspricht der Zusammensetzung $C_{18}H_{26}O_{13}$. Acetylierung ergab das Vorhandensein von zwei Hydroxylgruppen. Die Analyse der Salze ließ sie als dreibasische Säure erscheinen.

Bei andauerndem Schütteln mit Natriumbisulfit geht die rote Färbung in ein schmutziges Gelb über und läßt sich durch Ansäuern wieder herstellen. Es wurde die Bestimmung der Aldehydgruppen vorgenommen, durch deren Addition des Bisulfits die Farbenänderung eingetreten war, welche also für die Anthokyanfarbe bestimmend sind und das Vorhandensein von zwei Karbonylen festgestellt. Die Kalischmelze liefert Brenzkatechin.

Der amorphe Anthokyananteil, welcher im wesentlichen die Reaktionen des krystallisierenden zeigt, entspricht der Zusammensetzung $C_{24}H_{44}O_{20}$, erweist sich als Glukosid, dessen Zucker Dextrose ist.

Das amorphe Anthokyan ist als Zersetzungsprodukt des krystallisierenden aufzufassen; die Ableitung der beiden Anteile auseinander läßt sich, nach erfolgter Hydrolyse des Glukosids und Entstehung einer hypothetischen Substanz $C_{18}H_{34}O_{15}$, durch Abspaltung der Elemente des Wassers aus dieser und Anlagerung von Sauerstoff darstellen.

Beim vorsichtigen Trocknen der Blütenblätter verwandelt sich die ursprüngliche rote Farbe allmählich in Braun, womit eine starke Vermehrung des reduzierenden Zuckers und stärkeres Hervortreten des Gerbstoffcharakters verbunden ist. Es scheint sich das krystallisierte Anthokyan durch Abgabe von Sauerstoff — eine Veränderung, deren Eintreten an der Karboxylgruppe wahrscheinlich gemacht werden konnte — in eine Substanz zu verwandeln, die mit Zucker zusammen den amorphen Anteil liefert, worauf aus diesem, wohl durch Enzymwirkung Zucker abgespalten wird, während der übrigbleibende Rest weitergehende Zersetzung bis zum Hervortreten des aromatischen Gerbstoffkernes erfährt.

Die für die Anthokyanbildung günstige Wirkung von Zuckerdarreichung dürfte eher auf einer Verwandlung des

Zuckermoleküls in den aromatischen Komplex als auf Glukosidbildung beruhen. Ein als Protanthokyan zu bezeichnendes, eigenes Chromogen des Anthokyans dürfte nicht existieren, die Ergebnisse der gasanalytischen Untersuchung beim Auftreten und Verschwinden des Anthokyans durch R. Combes lassen sich mit den Resultaten der chemischen Analyse in gute Übereinstimmung bringen. Die das Anthokyan aus den Bausteinen synthetisierenden Vorgänge scheinen in der Laboratoriumsluft, trotz der hier bewirkten Zuckeranhäufung sistiert zu sein, da O. Richter das Auftreten von Anthokyan in Keimlingen unter solchen Verhältnissen nicht beobachtete.

Schließlich werden auf Grund fremder Arbeiten im Einvernehmen mit eigenen Versuchen die Möglichkeiten einer Anthokyansynthese erwogen.

Literatur.

Cavazza, L. E.: Zeitschrift für wissensch. Mikroskopie, *27*, 34 (1909) gibt eine Methode zur mikrochemischen Unterscheidung der Gerbstoffe, welche für die Untersuchung von Pflanzenfarbstoffen wichig sind.

Combes, R.: Du rôle de l'oxygène dans la formation et la destruction des pigments rouges anthocyaniques chez les végétaux. Comptes rendus de l'académie des sc. *150*, 1186 (1910).

Sur le dégagement simultané d'oxygène et d'anhydride carbonique au cours de la disparition des pigments anthocyaniques chez les végétaux, ebendas.

Les échanges gazeux des feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthocyaniques, Revue générale de botanique, Tome XXII, p. 177 (1910).

Colin, H.: Comptes rend. *148*, 1531 (1910) über die Rotfärbung der Zweige von *Salicornia fruticosa*.

Dezani, S.: Staz. sperim. agrar. ital. *43*, 428 (1910) nach dem Referat im Chem. Centralbl. 1910, 1142.

Glan, R.: Über den Farbstoff der schwarzen Malve, Inauguraldissertat. Erlangen 1892.

Grafe, V.: Studien über das Anthokyan I. und II. Sitzber. d. k. Akad. Wien, Bd. 115 (1906) und Bd. 118 (1909).

Griffiths, A. B.: Die Pigmente des Geraniums und anderer Pflanzen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36 (1903), 3959 und Chemical News 88, p. 249.

Harvey: Observation on the colour of flowers, 1899.

Heise, R.: Über den Heidelbeerfarbstoff. Arbeiten d. kais. Gesundheitsamtes. Berlin IX, 478 (1894).

Hilger, A.: Zur chemischen Kenntnis der Blumenfarbstoffe. Bot. Centralbl. 1894.

Ichimura, T.: On the formation of Anthokyan in the Petaloid Calyx of the red Japanese Hortense. Journ. of the Coll. of Sc. Imp. Univ. Tokyo. Vol. XVIII, Art. 3 (1903/4).

Katić, D. L. J.: Beitrag zur Kenntnis der Bildung des roten Farbstoffs in vegetativen Organen der Phanerogamen. Inaugdissert. Halle-Wittenberg, 1905.

Karzel, R.: Beiträge zur Kenntnis des Anthokyans in Blüten. Österr.-bot. Zeitschr. Nr. 9 (1906).

Keegan, P. Q.: Chem. News, *101*, 218 (1910) nach dem Referat im Chem. Centralbl. 1910, II., 96.

Laborde, M. J.: Sur l'origine de la matière colorante des raisins rouges et autres organes végétaux. Comptes rend. 146, I (1908), 1411.

Sur la transformation de la matière chromogène des raisins, pendant la maturation, ebendas. 147 (1908), 753.

Sur le mécanisme physiologique de la coloration des raisins rouges et de la coloration automnale des feuilles, ebendas. 147 (1908), 993.

Linsbauer, L.: Über photochemische Induktion bei der Anthokyanbildung. Wiesner-Festschrift 1908, p. 421.

Malvezin, Ph.: Sur l'origine de la couleur des raisins rouges. Compt. rend. 147 (1908), 384.

Mirande, M.: Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques Insectes parasites des feuilles. Compt. rend. 145 (1907).

Miyoshi, M.: Über die künstliche Änderung der Blütenfarben. Bot. Centralbl. 83 (1900), 345.

Über Herbst- und Trockenröte der Laubblätter. Journ. Coll. of Sc. Imp. Univ. Tokyo, 27, 1.

Molisch, H.: Über amorphes und krystallisiertes Anthokyan. Botan. Zeitg. 1905, 145.

Über ein neues, einen karminroten Farbstoff erzeugendes Chromogen bei *Schenckia blumenaviana* K. Sch. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 19, 149 (1901).

Der Einfluß des Bodens auf die Blütenfarbe der Hortensien. Bot. Zeitg. 1897, p. 49.

Molliard, M.: Comptes rendus *148*, 573 (1910) nach dem Referat im Chem. Centralbl. 1910, 1048.

Overton, E.: Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 33. 1899.

Palladin, W.: Über das Wesen der Pflanzenatmung. Biochem. Zeitschr. 1909.

Über die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. *36a*, 389 (1908).

Über Prochromogene der pflanzlichen Atmungschromogene, ebendas. *27*, 101 (1909).

Die Bildung roten Pigments an Wundstellen bei *Amaryllis vittata*, ebendas. *29*, 132 (1911).

Pollacci G. und L. Buscalioni: Le antocianine ed il loro significato biologico nelle piante, 1903.

Portheim L., v. und E. Scholl: Untersuchungen über die Bildung und den Chemismus von Anthokyanen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. *26a*, 480 (1908).

Richter, O.: Über Anthokyanbildung in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Medizin. Klinik 1907, Nr. 34.

Vouk, V.: Einige Versuche über den Einfluß von Aluminiumsalzen auf die Blütenfärbung. Öst. bot. Zeitschr. Nr. 6 (1908).

Weevers, Th.: Die physiologische Bedeutung einiger Glukoside, Recueil des Travaux bot. Néerland. Vol. VII (1910).

Kurze Notizen in bezug auf die Anthokyanbildung in jungen Schößlingen der tropischen Pflanzen. Annales du Jardin. Bot. de Buitenzorg. 2. Suppl. III (1909).

Weigert, L.: Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. Jahresber. d. k. k. önol. u. pomol. Anst. zu Klosterneuburg, 1894/95.

Wheldale M., Miss: On the nature of anthocyanin Procced. of the Cambridge. Phil. Soc. Vol. XV (1909).

On the formation of Anthocyanin. Journ. of Genetics. Vol. I. Nr. 2 (1911).